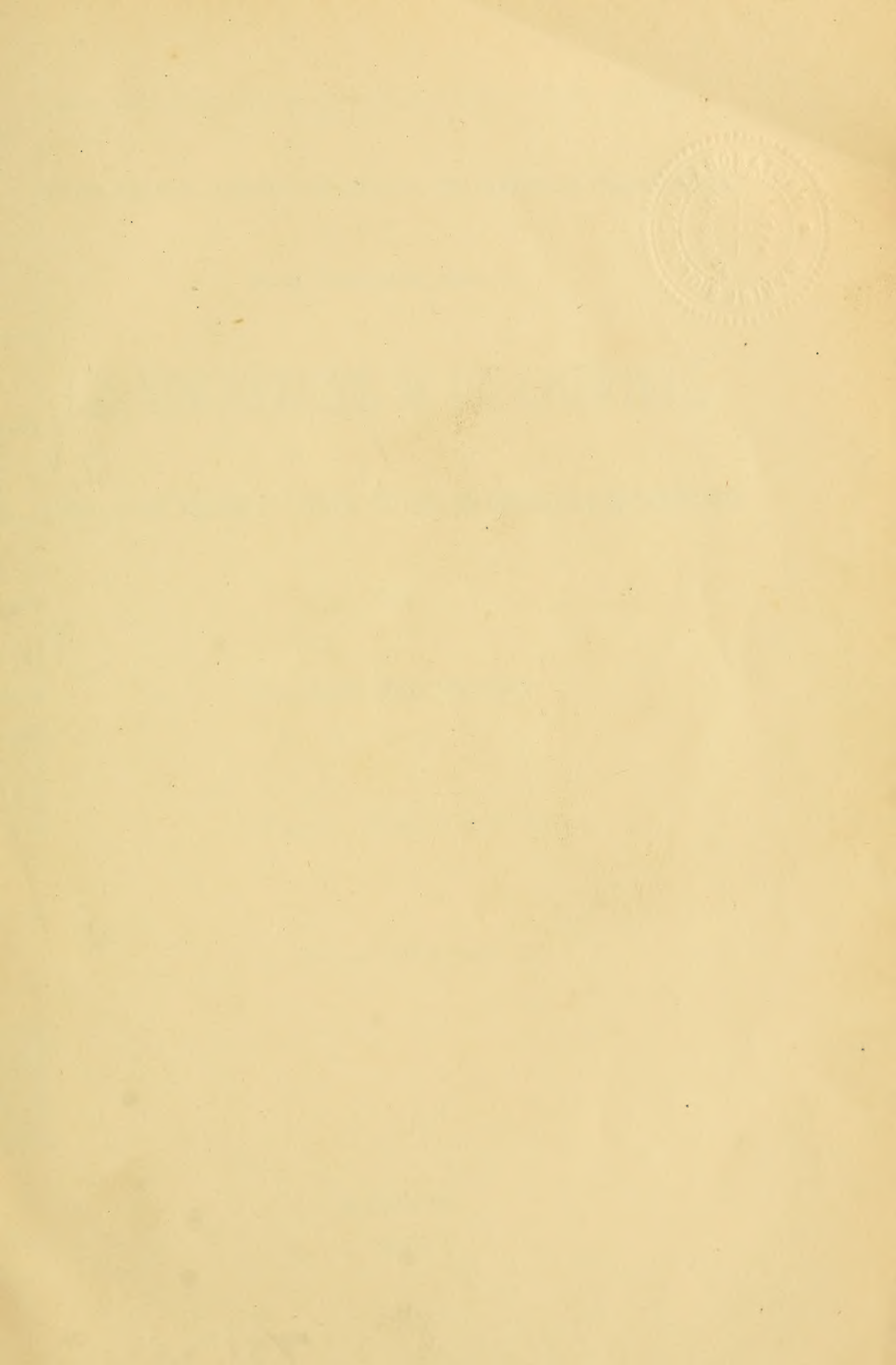


JUNTA PARA AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

TRABAJOS DEL MUSEO NACIONAL DE CIENCIAS NATURALES

SERIE ZOOLÓGICA, NÚM. 42.

ESTUDIO DE LA OVOGÉNESIS

EN LA

SAGITTA BIPUNCTATA, QUOY ET GAIM.

POR

MANUEL BORDÁS, SCH. P.

(CON 78 FIGURAS INTERCALADAS EN EL TEXTO)

(Publicado el 15 de Agosto)

MADRID

1920

MADRID.— Imprenta y Librería de Nicolás Moya, Garcilaso, 6, y Carretas, 37

Introducción.

El presente trabajo sobre la reducción numérica de los cromosomas en la ovogénesis del Quetognato *Sagitta bipunctata,* Quoy et Gaim., no viene a ser más que la continuación o Segunda Parte del que llevamos a cabo en 1911 en el Laboratorio Carnoy, de la Universidad de Lovaina, bajo la dirección del Profesor V. Grégoire, y que apareció en las *Memorias de la Real Sociedad de Historia Natural,* tomo X, 1914.

Lo comenzamos a estudiar en aquel mismo Laboratorio, y lo hemos podido llevar a término en el Museo Nacional de Ciencias Naturales, gracias a la amabilidad de su Director y a la del Profesor encargado del Laboratorio de Biología. A los dos les expreso mi reconocimiento.

* * *

El estudio de la espermatogénesis, que primeramente hicimos, necesitaba completarse con el de la ovogénesis; pues si, como ya dejamos allá advertido (pág. 52), la espermatogénesis había sido poco estudiada en la *Sagitta,* menos aún lo ha sido la ovogénesis. Esta sólo ha sido estudiada hasta el presente, al menos que sepamos, por P. Buchner (1910) y N. M. Stevens (1903-04).

El primero de estos autores insiste repetidas veces en que, después de la última división gonial de crecimiento, viene inmediatamente el estado de sinapsis, seguido del paquinema o *bouquet,* durante el cual, los filamentos cromatínicos engruesan, pero que no dejan en modo alguno reconocer división longitudinal de ninguna clase. Lo único que hay claro y evidente, a su

modo de ver, es que, cuando se reunen en un polo, aparecen ya con el número reducido, que es 9. «Figuras, dice BUCHNER, como la 12 [a nuestro parecer quiere representar el estrepsinema incipiente] afirman mi opinión de que debe excluirse toda conjugación paralela, y confirman una vez y siempre que los extremos están reunidos. Los filamentos son excesivamente delgados para que permitan reconocer una división longitudinal, pero suficientemente largos para que permitan reconocer una hipotética división transversal» (1).

No nos parece ésta una razón convincente; antes al contrario, creemos que el ser excesivamente delgados los filamentos favorece la suposición (dado caso de que no se pudiera confirmar por la observación directa, que ya veremos que es factible y real) de que se han dividido longitudinalmente los cordones del paquinema o *bouquet*, y que precisamente por eso resultan tan delgados. Lo mismo que el ser suficientemente largos abona la opinión de que no se han dividido trasversalmente, pues en ese caso no serían tan largos.

De las palabras de P. BUCHNER anteriormente citadas, se deduce que dicho autor opina, que la sindesis de los filamentos se verifica en el estado de la sinapsis o en el del paquinema, y que al salir de este estado se presentan los filamentos largos y delgados, metasindéticos, que darán origen a los cromosomas diacinéticos del primer huso. Si esto es así, debiera demostrarnos el autor el modo cómo las dos porciones, de que consta cada filamento, se repliegan una sobre otra, para dar origen a los dobles cromosomas de la diacinesis. Es decir, debiera demostrarnos el *replegamiento metasindético,* que GRÉGOIRE exige con razón a los partidarios de esta teoría reduccional. No lo hace así BUCHNER, sino que, sin presentar documento alguno,

---

(1) «Die Fäden sind zu dünn um einem Längspalt in sie verlegen zu können, aber lang genug, um einem hypotetischen Querspalt sich vorstellen zu können», pág. 440.

pasa inmediatamente del estado del *bouquet* al del primer huso de reducción.

De modo que BUCHNER omite enteramente los estados prepaquiténicos, que preceden al *bouquet*, y que dejamos descritos en nuestro resumen de 1914, pág. 15 y siguientes; menciona sólo el paquinema, como inmediatamente derivado de la última división gonial de crecimiento, y omite asimismo todos los estados postpaquiténicos (ib., pág. 32 y siguientes) hasta llegar a la metafase.

Ya vimos también (ib., pág. 54) que, con respecto a la espermatogénesis, se excusa el autor con la extremada pequeñez de los elementos y con lo difícil de su fijación, para obtener buenas preparaciones.

N. M. STEVENS, en sus trabajos aparecidos en 1903 y 1904, hace un estudio más detallado de la ovogénesis. Establece en el primero que los cromosomas del paquinema derivan inmediatamente de la última división gonial sin intervenir un estado de reposo (1). Es decir, que, al igual que BUCHNER, niega la existencia de los estados de la profase, anteriores al paquinema. En su segundo trabajo (1904) se decide por la parasindesis, afirmando que los cromosomas de la placa ecuatorial del primer huso se dividen dos veces longitudinalmente, formando una tetrada parecida a la del *Ascaris* (2).

Es muy digno de tenerse en cuenta que STEVENS es partidario de la metasindesis o conjugación *end to end* de los cromosomas somáticos en la espermatogénesis, motivo por el cual es de mayor valor su voto en favor de la parasindesis en el ovocito, aunque sea sumamente extraño que admita la metasindesis para un caso y la parasindesis para el otro.

---

(1) «The regular arrangement of loops in such oocytes, as are shown in fig. 5 and 6 [el paquinema], indicate the possibility that they may have begun their development after the last oogonial division without an intervenning resting stage». (1904, pág. 229).

(2) Are split twice longitudinaly, forming a tetrad similar that of *Ascaris*.

En nuestro trabajo de 1914 dejamos descritos todos los estados clásicos del desarrollo citario en la espermatogénesis, demostrando que el *bouquet* o paquinema no deriva inmediatamente de la última división gonial de crecimiento, sino que el núcleo espermatocitario pasa por todos los estados típicos de la profase de reducción, que preceden y siguen al paquinema. Asimismo dejamos sentado que la reducción es parasindética, y que la primera cinesis es heterotípica, siendo, por consiguiente, la metafase I eumeiótica, o sea que verifica la verdadera reducción cromática en la espermatogénesis.

Esto mismo hemos podido comprobar en el estudio de la ovogénesis, que no es más, como verá el lector, que una plena confirmación de los fenómenos espermatogenéticos.

Técnica empleada.

Nada hemos de añadir a lo que dijimos en nuestro anterior trabajo (pág. 58) respecto a la técnica que hemos empleado en nuestro estudio. Como la *Sagitta bipunctata* es hermafrodita, nos hemos servido de los mismos ejemplares para el estudio de ambos procesos.

Hemos de hacer notar, sin embargo, que aunque hemos aprovechado los mismos ejemplares, procedentes de Nápoles, no nos hemos servido de las mismas preparaciones, a pesar de que en el mismo cristal se encontrasen cortes del ovario y del testículo, como sucede cuando se secciona el animal longitudinalmente. Los espermatocitos toman con más intensidad la hematoxilina férrica de Heidenhain que los ovocitos, y es necesaria una acción más prolongada del decolorante para los primeros que para los segundos. De donde resulta que, generalmente hablando, las preparaciones que dan imágenes claras de la espermatogénesis, apenas las ofrecen visibles de la ovogénesis, por la excesiva decoloración que en ésta se produce. Y viceversa, las preparaciones buenas para el estudio de la ovogénesis resultan

excesivamente teñidas para la espermatogénesis, presentándose la hematoxilina amontonada en los núcleos del espermatocito y no permitiendo definición alguna buena.

Hecha esta salvedad, recordaremos que el fijador que nos ha dado mejores resultados es el fijador de Bouin.

Todas las figuras han sido observadas con el objetivo apocromático de Zeiss 1.40, dist. foc. 2 mm., con la serie de oculares compensadores, y dibujadas con la cámara clara de Abbe, teniendo el papel a la altura de la platina. El microscopio estaba provisto de un condensador holoscópico Watson, y hemos observado siempre con luz artificial, filtrada a través de una disolución de acetato de cobre, teniendo el filtro 19 mm. de espesor, y siguiendo en todo las instrucciones de BOLLES-LEE (1902) con respecto a la iluminación y empleo del condensador.

Estructura del ovario.

Podemos considerar dividido el cuerpo de la *Sagitta bipunctata* en cuatro porciones: cabeza, tronco, ovarios y testículos. Los testículos ocupan el último segmento; los ovarios les preceden inmediatamente. Son dos, y están colocados a lo largo de los lados del cuerpo, en la cavidad celómica, y separados uno de otro por el intestino.

Mirados en corte transversal (fig. 1) se ofrecen a la vista como un conjunto de huevos en diversos estados de desarrollo, abarcados por una especie de semiestuche *(c. f., c. f.)*, en forma de media luna, o de cuarto creciente, como dice STEVENS, más delgado por el centro que por los extremos. Este estuche constituye el epitelio germinativo, pero directamente sólo por su porción céntrica *(e. p. g.)*, en donde constantemente se encuentran los estados más primitivos del desarrollo del óvulo. Las demás células de ese epitelio, o sea las que hay en las alas de ese semicerco, contribuyen, sin duda, a la nutrición de la porción central, que es la propiamente germinativa, y poco a poco,

van sustituyendo a las células centrales, que se apartan transformadas en ovocitos.

Pudiérase comparar con más exactitud a la sámara del arce, de modo que el centro, en donde se encuentran las semillas, representara el epitelio germinativo, y las alas las dos prolongaciones laterales de dicho epitelio, que forman el estuche principal al conjunto de huevos.

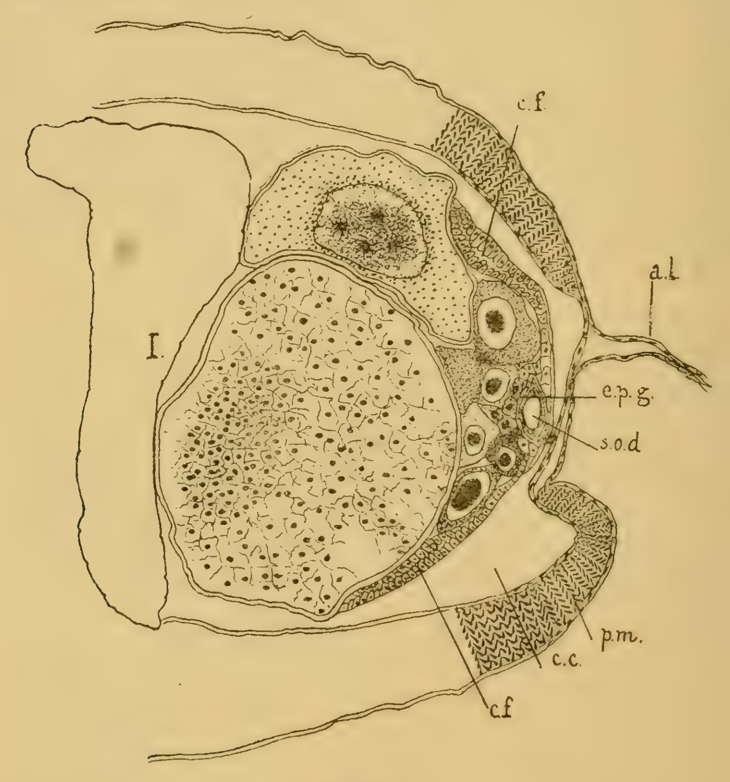


Figura 1.

Corte transversal del ovario.—*a. l.*, aleta lateral; *c. f.*, arco de células foliculares; *e. p. g.*, epitelio germinativo; *s. o. d.*, espermi-ovi-ducto; *c. c.*, cavidad celómica; *p. m.*, paredes musculares; *I*, intestino. × 300.

El número de óvulos, que aparecen en el corte transversal, es de unos 12 a 18. Comienzan a aparecer en las inmediaciones del epitelio germinativo; y paulatinamente, a medida que van

transformándose y creciendo, se corren hacia el interior, llegando hasta ponerse en contacto con las paredes del intestino. En corte longitudinal el aspecto es vario, según el lugar por donde pasa la sección. Si el corte pasa por la región del epitelio germinativo o próximo a él, abundan en el corte los ovocitos en las primeras fases del desarrollo citario, y de vez en cuando se observan entre los mismos las células suspensoras de los ovocitos más avanzados y los conductos micropilares, que se abren en el interior de los óvulos ya maduros o casi maduros. Si el corte longitudinal del microtomo viene dado por la región inmediata al intestino, en ese caso la preparación aparece completamente formada por óvulos en sus últimos períodos de desarrollo.

El epitelio semilunar, que abarca y protege el conjunto de óvulos, se termina superior e inferiormente por un capuchón, que se suelda por sus extremos a las paredes del cuerpo.

El capuchón inferior, por su superficie externa, que es convexa, forma el fondo superior del conducto seminal, que viene desde las vesículas seminales de los testículos y que va poco a poco abriéndose en forma de embudo, hasta quedar cerrado por la pared de dicho capuchón.

Entre la región germinativa del epitelio ovárico y la pared exterior del cuerpo corre un conducto *(s. o. d.)* que lo es a la vez para los espermatozoos y para la puesta de los huevos, por lo cual puede llamársele *espermi-ovi-ducto*. Sus paredes están formadas por una membrana epitelial de células pequeñas, por entre las cuales se ven *tractus* más o menos gruesos de substancia amorfa, que se tiñen intensamente por la hematoxilina, y de una textura análoga a la red testicular, que describimos en el testículo (1914, pág. 62, figs. 24, 25 y 26). Estos tractus amorfos y elásticos, juntamente con las células epiteliales, constituyen la *red ovárica* que sostiene agarrados los óvulos hasta su completo desarrollo; pues esos filamentos se prolongan por las paredes de la cavidad cónica, que se forma a la entrada del conducto del micropilo, que da paso al espermatozoo (figs. 16

a 25). Dichos ligamentos filamentosos se sueltan cuando el huevo está completamente desarrollado, o aun tal vez contribuyen a facilitar el paso del huevo al oviducto, para verificar la puesta.

El espermi-ovi-ducto recorre todo el ovario, adosado en su trayecto al epitelio germinativo. Por la parte superior termina encorvándose un poco hacia dentro de la cavidad ovárica y se abre en ella en forma algo ensanchada (fig. 2, *s. o. d.*), en tanto que el epitelio germinativo queda recogido debajo de él *(e. p. g.)*.

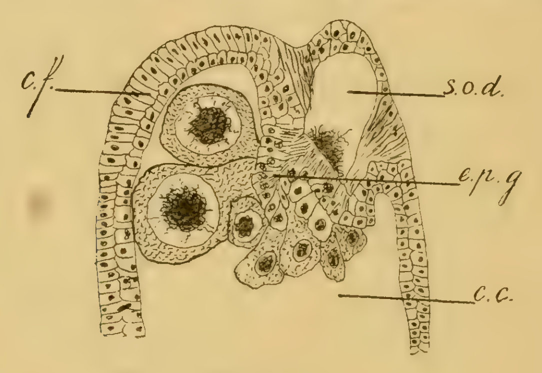


Figura 2.
Capuchón superior con la abertura del espermi-ovi-ducto, *s. o. d.*; *c. f.*, capuchón de células foliculares; *e. p. g.*, epitelio germinativo replegado; *c. c.*, cavidad celómica en la que se encuentran los óvulos. × 475.

Por la parte inferior el espermi-ovi-ducto se arquea casi en ángulo recto hacia atrás y desemboca *en la porción dorsal* inmediata a las aletas laterales (1).

Este conducto de comunicación con el exterior (figs. 5, 6 y 7) se presenta ligeramente estrechado en forma de cuello y se abre al exterior por un mamelón, formado por un conjunto de células alargadas *(c. m.)*. Estas células se apoyan en el epitelio subyacente, y encorvándose un poco, se reunen por su extremo libre,

---

(1) Sedgwich dice equivocadamente que los oviductos desembocan a ambos lados del ano, en el punto de unión de las regiones media y caudal. (A Student's Text-book of Zoology. Vol. I, London, Swan Sonnenschein and Co., 1898, pág. 589).

formando el orificio de salida. Son en número de unas 9 a 12, en corte transversal, y están finísimamente estriadas en el sentido de su mayor longitud. De modo que no sería extraño que formasen un esfínter de músculos involutarios, que rigiera la abertura o cierre del orificio sexual.

El orificio sexual masculino se encuentra detrás, en las vesículas seminales, no lejos de este mamelón. De donde resulta que

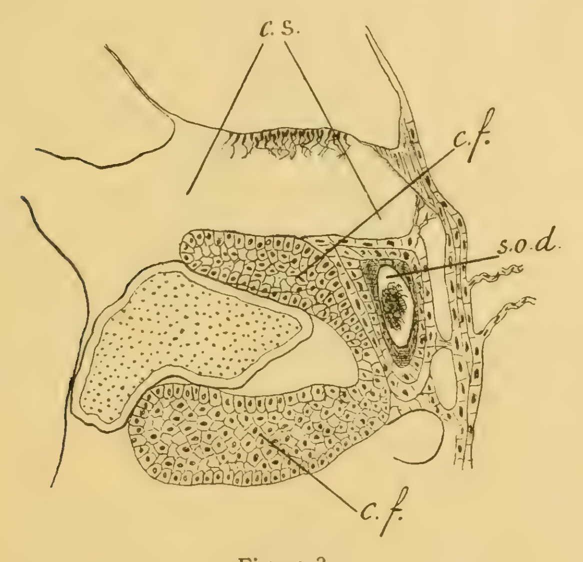


Figura 3.
Corte del ovario antes de llegar al canal de comunicación con el exterior. — *s. o. d.*, espermi-ovi-ducto; *c. s.*, boquete superior del conducto seminal; *c. f.*, arco de células foliculares. ×475.

es casi seguro que los espermatozoos, al salir de la vesícula seminal, penetren fácilmente y con abundancia en el oviducto; razón por la cual éste se halla constantemente lleno de infinidad de espermatozoos, siendo probable en muchos casos la autofecundación, como opina STEVENS.

Las figuras 3, 4, 5, 6 y 7 representan varios cortes de la terminación del espermi-ovi-ducto y sus anejos, hechos a diferentes alturas. En la figura 3 el espermi-ovi-ducto aparece de forma

aproximadamente elíptica (*s. o. d.*); a su izquierda se extiende un conjunto bilobado de células (*c. f.*), que corresponde a las dos alas laterales del estuche ovárico (fig. 1, *c. f.*), y que tiende a formar el fondo del capuchón inferior del ovario. A su vez, este mismo capuchón cierra superiormente el conducto seminal, del que se ve el ancho boquete en *c. s.* En el corte representado en la figura 4, hecho algo inferiormente, persiste aún el porte elíptico del conducto ovárico (*s. o. d.*); hemos llegado

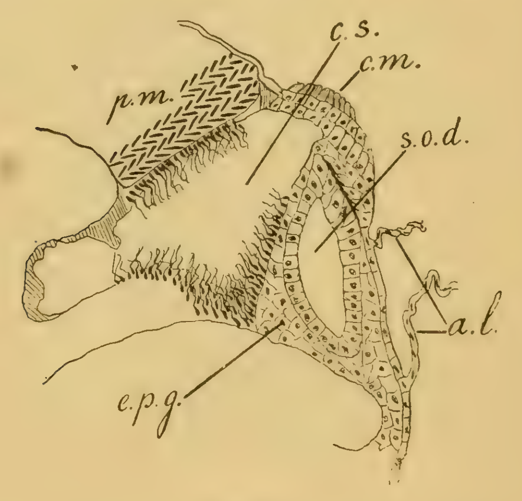


Figura 4.
Corte del ovario practicado más inferiormente que el anterior. — *c. m.*, mamelón de células; *p. m.*, paredes musculares; *a. l.*, aleta lateral. ×475.

al último plano del fondo del capuchón (*e. p. g.*), del que sólo quedan algunos restos. En cambio, está completamente abierta la porción superior del conducto seminal (*c. s.*). En *c. m.* comienzan a verse los primeros indicios del mamelón que forma el orificio sexual, situado, como claramente se ve, superiormente a la aleta lateral (*a. l.*), y, por consiguiente, en la región dorsal, y no al lado del ano, como dice Sedgwich. En la figura 5 hemos llegado al nivel superior del canal de comunicación del oviducto

con el exterior. El corte del oviducto, que era elíptico, se prolonga en forma de cuello (*s. o. d.*), terminado por el mamelón (*c. m.*) de células reguladoras. Ha desaparecido el fondo del capuchón ovárico, del que únicamente queda un resto insignificante en *c. f.* El conducto seminal (*c. s.*) continúa abierto. En el corte siguiente (fig. 6), dado precisamente en medio y a lo largo del canal de comunicación, se ve de un modo claro el estrechamiento en cuello del mismo (*s. o. d.*) y la abertura for-

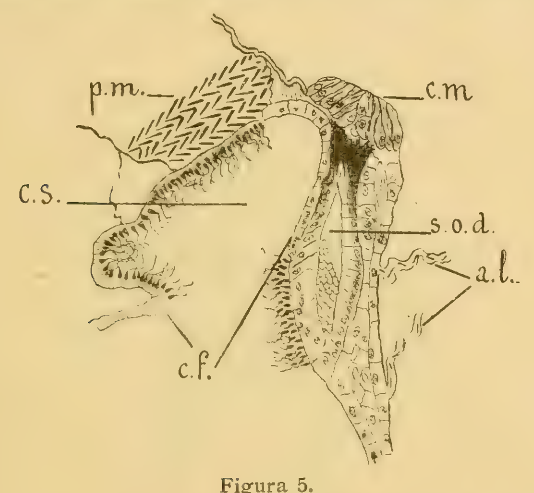


Figura 5.
Corte practicado en el plano superior del canal de comunicación del espermi-ovi-ducto **s. o. d.** con el exterior. Las letras el mismo significado que anteriormente. ×475.

mada por las células del mamelón (*c. m.*), las cuales dejan, por debajo de la pirámide achatada que forman, una cavidad o cámara ensanchada. Esta cavidad, juntamente con las células reguladoras, cuando se abren, contribuye a la formación de un embudo colector de los espermatozoos, y sirve, por consiguiente, para facilitar la fecundación. Del capuchón ovárico apenas queda indicio (*c. f.*). En el corte de la figura 7, dado más inferiormente que el anterior, se ve abierto el orificio formado por las células del mamelón (*c. m.*). Lo cual parece indicar que el

orificio exterior de la cámara no se corresponde con el eje del canal de comunicación, sino que está algo desviado inferiormente; posición altamente favorable para el fin a que está destinada, pues, encontrándose el orificio sexual masculino situado inferiormente, los espermatozoos, al ascender, encuentran en seguida el embudo colector, por donde pueden penetrar en el espermi-ovi-ducto. En cambio, si el animal cierra la abertura por la contracción de las células reguladoras, los espermatozoos se deslizan a lo largo del cuerpo, sin penetrar en el canal.

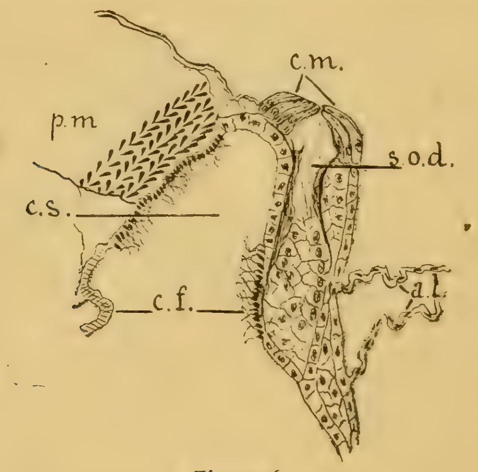


Figura 6.
Corte en el centro del canal. Las letras el mismo significado que la figura 5. ×475.

Este conducto que estamos describiendo no sólo sirve para la entrada de los espermatozoos, sino que también, y aun principalmente, para la expulsión o puesta de los huevos. Por este motivo llamamos a este conducto *espermi-ovi-ducto*.

La puesta de los huevos se verifica según el modo descrito por Stevens (1904). Lo hemos podido observar parcialmente en nuestras preparaciones. El huevo maduro se abre paso por entre las células que le rodean (fig. 8), por entre las cuales penetra a modo de ameba, contrayéndose y estirándose, para buscar el

hoyo o divertículo que el oviducto forma a su nivel (figs. 15 a 25), en continuidad, o mejor dicho, al comenzar el canal micropilar de entrada para el espermatozoo. El arco de células epiteliales del tejido germinativo, correspondiente al lado en que se encuentra el huevo maduro, es rechazado lateralmente, introduciéndose el huevo poco a poco en el espermi-ovi-ducto. Los cambios de forma, que para todo esto verifica el huevo, son fáciles, merced a la blandura y flexibilidad de la membrana vitelina, que, aunque gruesa, no se endurece en todo el desarrollo ovocitario.

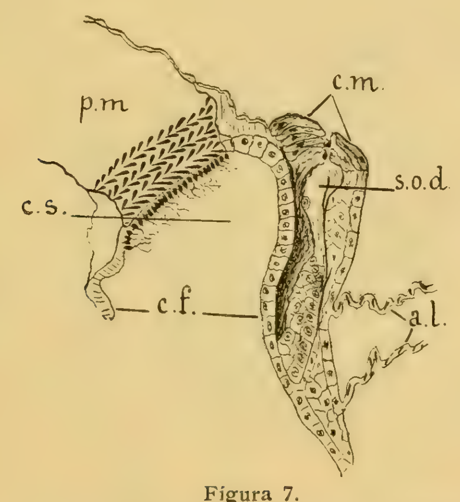


Figura 7.
Corte en el plano inferior del canal. Las letras el mismo significado que la figura 5. × 475.

Boveri ha podido comprobar que los huevos de *Sagitta*, al pasar por el estrecho orificio en el momento de la puesta, toman una forma alargada, pero que en el agua recobran su forma redondeada (1).

Según E. W. Macbride (1914) la puesta de los huevos maduros tiene lugar de diferente manera: «Las células degeneradas

(1) Citado por E. Korschelt y K. Heider.

[dice] que se interponen, especialmente en la base del ovario, entre el epitelio germinativo y el ectodermo, desarrollan eventualmente una cavidad y forman el oviducto. Este crece hacia atrás, y en la época de la madurez llega hasta el ectodermo y

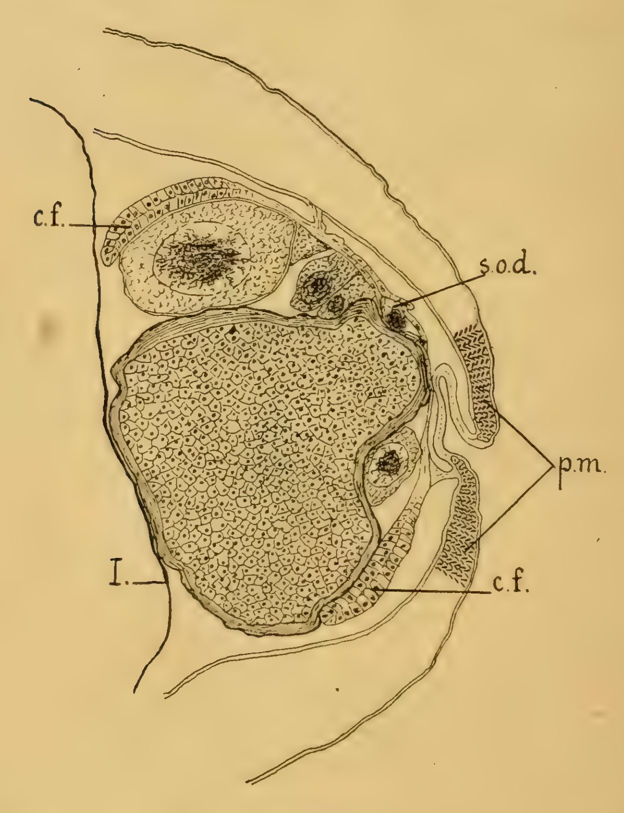


Figura 8.

Expulsión del huevo maduro. — *s. o. d.*, espermi-ovi-ducto; *p. m.*, paredes musculares; *c. f.*, arco de células foliculares, rechazado lateralmente; I, intestino. × 300.

se funde con él en un punto en el cual se ha formado la abertura sexual femenina. Buchner (1910) [añade el mismo autor] ha encontrado que los huevos grandes pasan dentro del estrecho oviducto, a través de una estrecha abertura, a modo de hendidura,

que es visible únicamente en el momento del paso del huevo» (1). Hemos de advertir que ni MACBRIDE, ni BUCHNER (1910) presentan dibujo alguno del oviducto, ni de la expulsión de los huevos, tal como la describen.

La membrana vitelina y la membrana nuclear.

De las dos membranas, corion y vitelina, que envuelven de ordinario al huevo, únicamente podemos certificar en nuestro caso la existencia de la vitelina.

Está formada, cuando ha llegado a su completo desarrollo, por una cubierta anhista, bastante gruesa, flexible, que se adapta perfectamente a las presiones que sobre el huevo ejercen los ovocitos inmediatos, como puede verse en las figuras 1, 2, 3 y 8.

En un principio, la membrana del ovocito no se distingue en nada de las membranas de las restantes células. No presenta ningún cuerpo extraño adherido a la misma en su superficie exterior. A lo más se ven pequeñas incrustaciones de forma indeterminada, que se colorean en azul intenso o negro por la hematoxilina, y que parecen ser de la misma naturaleza que las trabéculas del espermi-ovi-ducto, que mencionamos anteriormente (pág. 11).

Más adelante, cuando el núcleo está en el estado de estrepsinema y el protoplasma comienza a llenarse de granulaciones,

(1) «As the ova enlarge and mature they become pressed out of this layer of epithelium, and are found projecting from the surface of the ovary towards the body cavity, though covered with a structureless membrane. The loose cells wich intervene, specially at the base of the ovary between the germinal epithelium and the ectoderm, eventually develop a cavity and form the oviduct. This grows backwards and at maturity reaches and fuses with the ectoderm at a point where the female opening is formed. BUCHNER (1910) has found that the large ova pass into the narrow oviduct through narrow slit-like openings wich are only visible at the moment of passage». (E. W. MACBRIDE. Text-book of Embriology. London, MacMillan and Co., 1914, págs. 434 y 435).

empieza también a verse algo engrosada dicha membrana. Es digno de notarse, que este engrosamiento de la membrana vitelina, no sólo coincide con la presencia y desarrollo de los gránulos vitelínicos en el interior del protoplasma, sino que también con la mayor proximidad del ovocito a la región exterior del ovario, que está inmediata al intestino, como lo demuestran las figuras.

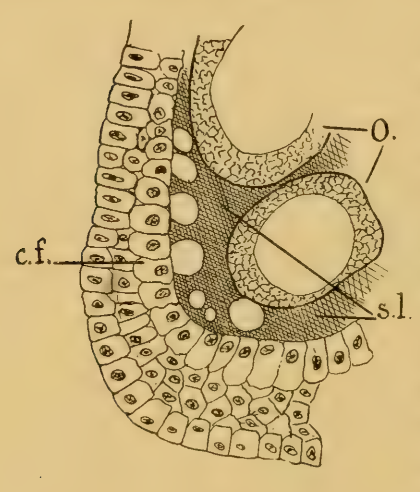


Figura 9.

Corte del capuchón inferior del ovario. *c f.*, células foliculares; *s. l.*, substancia linfática; *O.*, ovocitos. ×680.

El espacio que dejan sin ocupar los ovocitos, es decir, los intersticios que entre ellos quedan, y los espacios que median entre los mismos, las paredes del intestino y las paredes musculares del ectodermo, quedán rellenos de un líquido nutritivo o linfa, que ha de contribuir no poco a la nutrición del óvulo, como asimismo a la formación y desarrollo de esta membrana. La figura 9 representa un corte del ovario hecho en el fondo del capuchón inferior; en él se ve, que dicha linfa rellena el espacio entre el epitelio germinativo y los dos ovocitos que se encuentran como sumergidos en ella. Por efecto, sin duda, de los reactivos empleados en la técnica, dicha linfa, al coagularse, ha dejado como burbujas vacías en su seno.

Efecto, pues, de la más abundante nutrición de que disfruta, la membrana va engrosando por su cara interna, infraponiéndose nuevas capas a las anteriormente formadas; de lo cual resulta el aspecto estratificado que tiene en los ovocitos maduros o casi maduros (figs. 16 a 23 y 65 a 74). La misma blandura y elasticidad que permiten a esta membrana, como antes decíamos,

adaptarse a las presiones de las células circunvecinas, le facilita extenderse y dilatarse, a medida que el aumento de volumen del ovocito exige mayor superficie en la membrana envolvente.

En la membrana vitelina, ni mirada de frente, ni en corte transversal, hemos podido descubrir el menor indicio de poros figurados. Presenta de vez en cuando pequeñas irregularidades y engrosamientos (figs. 61, 67 y 68); pero, en general, puede decirse que es bastante uniforme en su conjunto.

Para la expulsión de los cuerpos polares, comienza a resquebrajarse (figs. 69, 73 y 74) por la región inmediata al lugar en que se forma el huso acromático, y sin duda bajo la influencia del mismo. Este resquebrajamiento mecánico va acompañado de la acción química, disolvente, de la substancia acumulada en el interior de las resquebrajaduras, la cual acción, juntamente con la de tracción verificada tal vez por el huso acromático (tracción parecida a la que ejerce sobre los cromosomas), hace que la cubierta del huevo se abombe interiormente y acabe por dejar paso libre al cuerpo polar directivo.

Resquebrajaduras análogas se producen en la membrana vitelina, durante la formación del aparato micropilar (figs. 16 a 23), por la acción de las células suspensoras.

No hemos podido observar ningún indicio de corion. Si existe, debe ser finísimo y tan íntimamente unido a la membrana vitelina, que en ningún caso se desprende una de otra. En algunos huevos, como en los de *Ptychomyia selecta, Meig.*, según resulta de las observaciones del P. Pantel — recientemente arrebatado a la ciencia — fórmanse unas burbujas en la periferia del citoplasma, burbujas que están limitadas por la membrana vitelina, que se ha desprendido de la cara interior del corion. De modo que dicha membrana forma la periferia de la burbuja. En los huevos de la *Sagitta bipunctata* fórmanse también abundantemente burbujas, que predominan las más de las veces en la periferia del citoplasma y en inmediato contacto con la membrana envolvente, como lo demuestran las figuras 11, 55, 57, 58 y 59.

Mirado de frente un corte tangencial del ovocito en el estado de la figura 59, se presenta como acribillado de burbujas (fig. 10). Pero en ningún caso, sobre todo en los cortes secantes (figs. 11 y 59), que mejor se prestan a la observación, hemos podido descubrir el menor indicio de membrana vitelina, que se hubiera desprendido del corion, para formar la burbuja. El límite de ésta está sencillamente formado por el mismo citoplasma que, a lo más, se espesa ligeramente, como por efecto del mayor retraimiento o acumulación de substancia (figs. 57 y 58). Además, estas burbujas las encontramos también, y a veces en abundancia, en el interior del citoplasma y en regiones muy apartadas de la periferia (figs. 55, 56 y 58). Estas vacuolas están, a nuestro modo de ver, en conexión con la multiplicación de los gránulos del vitelo nutritivo, como ya notó H. King (1908) en el ovocito del *Bufo lentiginosus*.

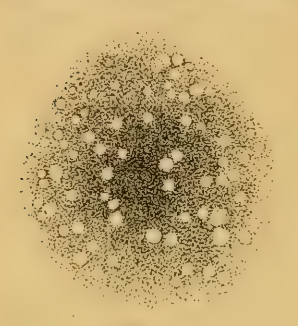


Figura 10.
Corte tangencial y superficial de un ovocito: burbujas que se forman en el citoplasma en contacto con la membrana vitelina. ×680.

* * *

La membrana nuclear presenta una estructura más diferenciada que la vitelina, que acabamos de describir. Tanto en las células goniales, como en las citarias, es perfectamente visible, teñida con la hematoxilina, aunque finísima. Persiste durante casi toda la profase, y comienza a desaparecer cuando los cromosomas se reunen para formar la figura de la metafase (fig. 70). En ese núcleo se ve que el núcleoplasma se extravasa por diferentes lugares, sin que sea posible distinguir ningún girón, ni rotura en la membrana. De modo que su manera de ir desapareciendo más bien nos parece que ha de ser por disolución, que por rotura propiamente dicha. Stevens (1904) opina en cambio, que la membrana nuclear desaparece únicamente en las cercanías

del lugar en que se forma el huso acromático, para lo cual se rompe o desgarra, y por la rotura producida se extravasa el carioplasma y fluye en el citoplasma.

En un estado más avanzado de desaparición se conserva el perfil del núcleo, marcado, no por la membrana, de la que ya no se descubre rastro alguno, sino por las granulaciones que sobre ella se acumularon. Así, en la figura 71 se ve aún la membrana nuclear finísima, sobre cuya superficie interior se han acumulado multitud de granulaciones. En cambio, en la figura siguiente 72 ha desaparecido todo rastro de membrana; pero su situación queda denunciada por la alineación más o menos regular, que conservan aún las granulaciones, como puede verse también en la figura 69.

Esa disolución de la membrana nuclear es uno de tantos procesos que están ligados con el fenómeno de la maduración del ovocito. Principalmente, teniendo en cuenta que dicha membrana no deja de ser un depósito de substancias utilizables en aquella transformación. En efecto, en estados muy primitivos del desarrollo citario, obsérvanse sobre la misma numerosos cariosomas que la incrustan en diferentes lugares. Lo mismo hicimos notar en los núcleos de la espermatogénesis (1914, pág. 73). Estos cariosomas no están distribuídos con regularidad, como puede verse en las figuras 26, 29, 33, 35, 49, 50 y 53. Una vista polar de los mismos nos enseña, que son de contornos irregulares y que no pueden en manera alguna confundirse con el nucleolo, que es siempre redondeado y ocupa un lugar interior en el núcleo. En corte transversal (figuras antes citadas) se los ve íntimamente adheridos a la membrana nuclear y, no sólo son de grosor variable, sino que este grosor no es el mismo en las diferentes partes del cariosoma, siendo de ordinario más abultados hacia el centro o hacia uno de los bordes.

Este es el aspecto que presentan en los primeros tiempos de la profase. Mas a medida que crece el ovocito y con él el núcleo, los cariosomas van dando origen a una red (fig. 11), que se

extiende por encima de la membrana nuclear, a la manera del armazón silíceo que se observa en los Radiolarios. Las bandas de esta red recorren irregularmente toda la membrana, formando un tejido laxo de cintas, en las cuales hay depositadas granulaciones diversas. Las bandas son escasas en un principio, y relativamente gruesas, como se ve en los cortes de los núcleos en que dichas bandas quedan cortadas transversalmente, presentándose como engrosamientos de la membrana nuclear (figuras 52 y 54). Posteriormente, con el desarrollo del ovocito, dichas bandas se subdividen muchas veces hasta hacerse numerosas, delgadas y de un grosor uniforme (figs. 55, 56, 57, 58 y 59). Únicamente en las uniones de varias bandas es en donde se acumula mayor cantidad de substancia. Finalmente, cuando el núcleo ha llegado al estado representado en la figura 61, las bandas llegan casi a confundirse con la misma membrana nuclear, sobre la que reposan, hasta que al fin desaparecen. Pero, cosa notable, cuando la membrana nuclear es finísima, estando a punto de desaparecer (figs. 67 y 68), y cuando ya ha desaparecido (figs. 69 y 72), se ve—en su cortorno, en el primer caso, y en el lugar que ocupaba, en el segundo—una multitud de granulaciones, que bien pudieran ser las mismas, que tan abundantemente se encuentran encima de las bandas. Efectivamente, una vista polar, exterior y superficial, del núcleo nos presenta su membrana enteramente cubierta de esas granulaciones.

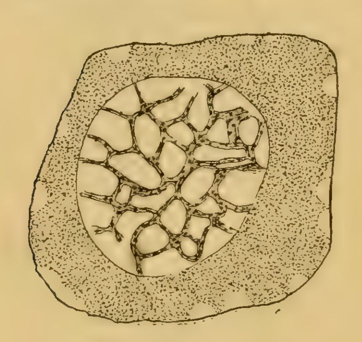


Figura 11.
Red de la membrana nuclear. ×680.

No nos atrevemos, sin embargo, a asegurar que realmente esas granulaciones últimas, que se observan sobre la membrana nuclear—o en su contorno, cuando ha desaparecido—sean todas ellas las mismas que se ven sobre las bandas de la red; pues pu-

dieran también estar relacionadas con la formación o existencia de las gruesas inclusiones, microsomas, *yolk-granules* o gránulos vitelínicos, que, como veremos más adelante, llenan por completo el óvulo en este período del desarrollo citario.

Pero, de todas maneras, no hay duda de que a medida que el núcleo avanza en su evolución y se aproxima al momento de su madurez definiva, dichas granulaciones desaparecen como propias de la membrana nuclear, y se mezclan con los gruesos gránulos, que forman en gran parte el depósito alimenticio del huevo.

El crecimiento de la membrana nuclear sigue, en general, las mismas fases que el de la vitelina. En los primeros estados del desarrollo citario apenas aumenta de superficie; mas, desde el período del paquinema, comienza a dilatarse grandemente, permitiendo de esta manera el desarrollo y crecimiento extraordinarios de los cromosomas y su dispersión por el interior de la cavidad. Una serie de medidas nos dará idea de ese crecimiento de la membrana nuclear, consecuencia natural del crecimiento del núcleo. El núcleo *a* de la figura 30, que es el más pequeño que hemos dibujado, y que es aproximadamente esférico, mide 6'2 μ de diámetro, lo que da para su membrana una superficie de 120 μ cuadradas aproximadamente. Al terminar el primer período de crecimiento, representado en el paquinema de la figura 37, dichas medidas son respectivamente 8 μ para el diámetro del núcleo y 201 μ cuadradas para la superficie de su cubierta. Ha crecido, por consiguiente, sólo 81 μ cuadradas. En cambio, a partir del comenzamiento del período postpaquiténico, los núcleos crecen con una rapidez extraordinaria. Así el núcleo (fig. 48) mide 13 μ de diámetro, siendo la superficie de 530 μ cuadradas. El núcleo mayor de la figura 55-*d* mide aproximadamente 22 μ de diámetro, y la superficie 1.520 μ cuadradas. La membrana del núcleo de la figura 57 llega ya a medir 9.852 μ cuadradas de superficie, y la del núcleo de la figura 59, que casi ha llegado al término del crecimiento, mide 16.461 μ cuadradas de superficie.

A pesar de tan notable crecimiento, no está todavía en proporción con el de la membrana vitelina, que es mucho más rápido y mayor, sobre todo a partir del estado de la figura 59. Hasta ese estado el crecimiento se mantiene, poco más o menos, proporcional en ambos. A partir de este estado, en que comienza a cumplirse, a lo que parece, el aprovisionamiento vitelínico del óvulo, el núcleo queda casi estacionario en su aumento en volumen, y en cambio, tiene lugar el rápido crecimiento de todo el óvulo en conjunto y, por consiguiente, el de su cubierta exterior. Esta mide, aproximadamente, en el ovocito de la figura 59, 50.192 μ cuadradas, y al terminar el desarrollo en volumen, que puede considerarse completado en el ovocito de la figura 65, mide la membrana vitelina, próximamente, unas 212.371 μ cuadradas.

No hay duda ninguna de que los cariosomas dan origen a la red nuclear (que no debe confundirse con la red ovárica), ya que están en perfecta correlación, pues, a medida que la red se extiende, aquéllos son más delgados, y quedan limitados a marcar las encrucijadas de varias bandas. Lo mismo opina STEVENS (1903). Pero ¿cuál es el origen de estos cariosomas? ¿Derivan, como se pregunta BUCHNER (1910), de las células suspensoras, que veremos más adelante? Pudiera ser; mas no nos parece probable. En primer lugar, porque las células suspensoras, según nuestra opinión, están exclusivamente en relación con la suspensión del óvulo y, sobre todo, con la formación del aparato micropilar, que vamos a describir luego. Y, en segundo lugar, porque los cariosomas, aunque no tan abundantes, se observan también en los primeros estados de la espermatogénesis; y allí no existen células suspensoras, como no sean las somáticas, a las que están unidas las células de la última división gonial. Pero para que los cariosomas de estas células de la última división gonial fuesen originados por las adyacentes suspensoras, sería preciso ver señales de degeneración en éstas ya desde los estados primitivos. Cosa que no se observa en ningún caso.

Nos parece más probable la idea de que estos cariosomas nucleares sean producidos por la actividad trófica del ovocito, a expensas, al menos en parte, no de las células suspensoras, sino de las adyacentes del epitelio germinativo, que se van corriendo por los lados de las suspensoras (figs. 16, 20, 21, 22, 23 y 24) y van lentamente degenerando, hasta desaparecer por completo, facilitando con su disolución la salida del huevo maduro por el boquete, que dejan abierto en la pared del espermi-ovi-ducto, por el cual, según dejamos explicado en la página 16, se verifica la expulsión del huevo.

Aparato micropilar.

No es simplemente un sencillo micropilo el lugar por donde se verifica la entrada del espermatozoo en el huevo. En la *Sagitta bipunctata* se forma un verdadero conducto micropilar, como ya notó Stevens en 1904. Este aparato está esencialmente constituído por un canal cilíndrico, más o menos flexuoso, que va desde el divertículo formado en la pared del espermi-ovi ducto hasta el interior del huevo (1).

En un principio los ovocitos se encuentran unidos directamente a la pared del epitelio germinativo, sin intermedio de ninguna célula suspensora, de tal manera, que algunos ovocitos llegan a limitar con la pared misma del espermi-ovi-ducto (figuras 35, 48, 51 y 55). El lado de la membrana celular, que está en contacto con dicho epitelio germinativo, suele presentar pequeños engrosamientos, que se tiñen fuertemente por la hematoxilina y parecen ser de la misma naturaleza que los filamentos

(1) ¿Será este conducto el filamento suspensor de que habla Buchner? Tal vez. Pero de todos modos téngase en cuenta que, según dicho autor (página 435), el filamento suspensor se rompe y la célula que lo produce se hunde en el óvulo, en donde degenera. En cambio, el conducto micropilar penetra hasta el interior del mismo óvulo, juntamente con la célula, que ciertamente degenerará después.

o tractus, que dijimos están distribuídos por las paredes interiores del espermi-ovi ducto.

Poco a poco el ovocito es rechazado hacia el interior del ovario por las células adyacentes del epitelio, que siguen multiplicándose, y por los ovocitos nuevos que se van formando. De donde resulta que el ovocito queda unido al epitelio germinativo únicamente por el intermedio de una célula epitelial (fig. 54), que se va alargando, y aumenta de tamaño con relación a las restantes células epiteliales. Esta es la primera célula suspen-

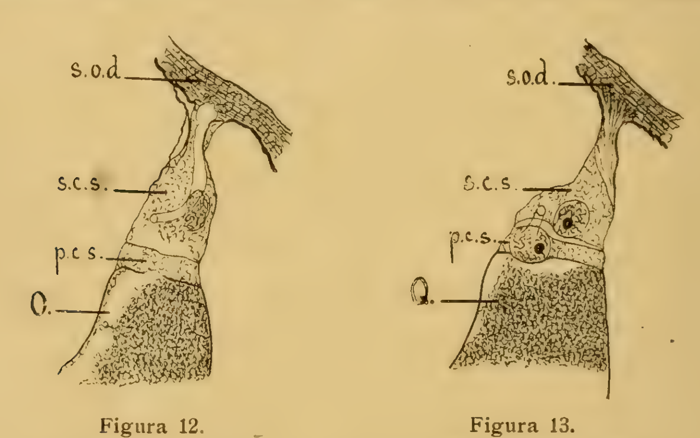


Figura 12. Figura 13.

Formación del aparato micropilar.—Cortes pertenecientes a un mismo aparato.—*s. o. d.*, pared del espermi-ovi-ducto; *s. c. s.*, segunda célula suspensora; *p. c. s.*, primera célula suspensora; *O.*, ovocito. × 1.000.

sora (*c. s.*), cuyo protoplasma se tiñe con bastante intensidad por la hematoxilina. Su núcleo, que es relativamente voluminoso, se encuentra siempre en la región que está en inmediato contacto con el ovocito.

Más tarde es arrastrada otra célula, que comprime a la anterior contra el óvulo, haciéndola tomar una forma lenticular; es la segunda célula suspensora, cuyos caracteres de colorabilidad y núcleo voluminoso son análogos a los de la anterior.

En la segunda célula suspensora, que es la que queda inmediatamente unida al espermi-ovi-ducto, se forma una vacuola,

rellena, sin duda, de algún jugo especial citoplásmico; vacuola que se va prolongando a lo largo del eje mayor de la célula, y que, atravesando la membrana celular por la parte que forma límite con la pared del espermi-ovi-ducto, penetra en las paredes de éste, disolviéndolas poco a poco, hasta penetrar en él (figs. 12 y 14). La forma mazuda e irregular que presenta esta vacuola en su porción superior, nos hace sospechar en la existencia de una substancia amorfa en el interior de la misma. Por el otro extremo la vacuola disuelve las dos membranas celulares, que están en contacto (fig. 14), y se termina, por ahora, en el interior de la célula inferior, siempre en lugar muy próximo al núcleo. A veces, por un efecto de proyección, parece que la vacuola se termina en el mismo núcleo (fig. 13). La terminación inferior de la vacuola no es irregular, como la superior, sino acampanada o embudada, como se observa en las mismas figuras 13 y 14.

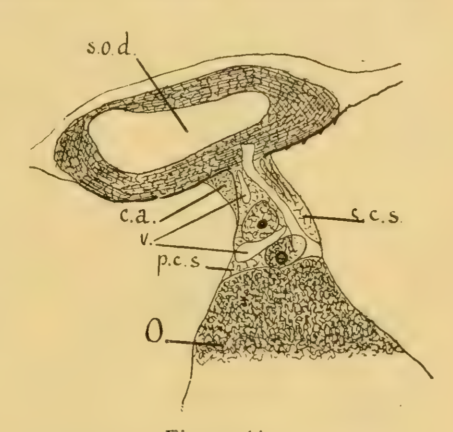


Figura 14.
Formación del aparato micropilar. *s. o. d.*, espermi-ovi-ducto; *v.*, vacuolas en la segunda célula suspensora. × 1.000.

Durante este tiempo, la membrana vitelina del óvulo permanece aún delgada y fina, pues estos fenómenos tienen lugar, mientras el ovocito está en las primeras fases del gran crecimiento. Posteriormente, al mismo tiempo que la membrana vitelina comienza a engrosar, la primera célula suspensora, que es la más próxima al ovocito, se va hundiendo paulatinamente en el interior del mismo, y no sólo impide el engrosamiento de la vitelina en esa región, sino que llega a disolver la delgada capa ya existente (fig. 15). En su descenso arrastra consigo la

vacuola, a la que podemos ya llamar desde este momento *canal micropilar*. De este modo queda formado en la membrana vitelina un gran agujero, que no tardará en cerrarse del todo.

Efectivamente, una vez hundida la primera célula suspensora en el interior del óvulo, comienzan a degenerar las dos células suspensoras. La segunda célula ya manifiesta indicios de progresiva vacuolización, cuando aún la primera no ha atravesado la pared del óvulo (fig. 14). La misma formación de la vacuola-canal a sus expensas es una señal de degeneración que sigue acentuándose al mismo tiempo que avanza la formación del conducto. Una vez verificado el hundimiento de la primera célula, aumentan de modo extraordinario las vacuolas en la segunda, hasta que terminan por ocuparla casi enteramente. Estas vacuolas, sin embargo, no son de la misma naturaleza que la que ha dado origen al canal. Y prueba de ello es que esas vacuolas se funden al ponerse en contacto (figs. 17, 18 y 21), mientras que la vacuola canal pasa por entre ellas (figs. 15, 18, 21 y 25), sin perder su individualidad: tiene, por consiguiente, paredes propias.

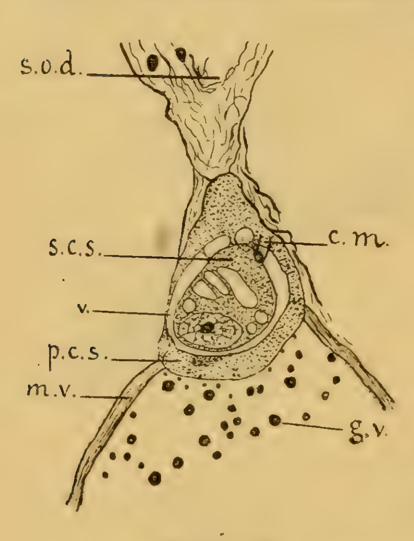


Figura 15.

Formación del aparato micropilar. *c. m.*, canal micropilar; *m. v.*, membrana vitelina; *g. v.*, gránulos vitelínicos. ×1.000.

La primera célula suspensora, hundida en el citoplasma del óvulo, pierde, por disolución, su membrana, quedando, como indicios o señales de la misma, pequeñas granulaciones (figs. 16, 17, 19, 20, 22 y 23), como las que anotamos al hablar de la disolución de la membrana nuclear del ovocito (pág. 24 y figs. 69, 71 y 72). Su citoplasma se va también vacuolizando lentamente,

y, por último, citoplasma y núcleo desaparecen en el seno del plasma ovocitario.

Pero al mismo tiempo que tienen lugar estas vacuolizaciones y disoluciones de las células suspensoras, se va constituyendo la membrana vitelina en el agujero que había quedado abierto. La

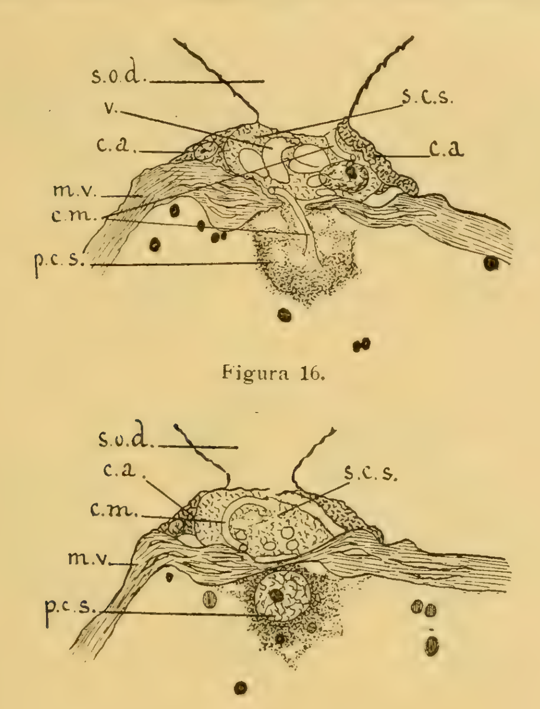


Figura 16.

Figura 17.

Cortes pertenecientes a un mismo aparato micropilar. *c. a.*, células accesorias; *m. v.*, membrana vitelina; *s. o. d.*, espermi-ovi-ducto; *s. c. s.*, segunda célula suspensora; *p. c. s.*, primera célula suspensora; *c. m.*, canal micropilar, pasando a través del agujero micropilar de la membrana. × 1.000.

porción de membrana nuevamente formada a expensas sin duda de las células adyacentes (fig. 20, *c. a.*), es, en un principio, delgada; y su punto de soldadura con la porción de vitelina ya existente, está denunciado por resquebrajaduras en un todo semejantes a las que hemos visto se forman (pág. 21) para la ex-

pulsión de los glóbulos polares. Tal vez esas resquebrajaduras sean efecto de alguna retracción, que tiene lugar en dicho punto de la membrana, para redondearla y hacer desaparecer el saliente que allí forma el óvulo hasta el presente estado.

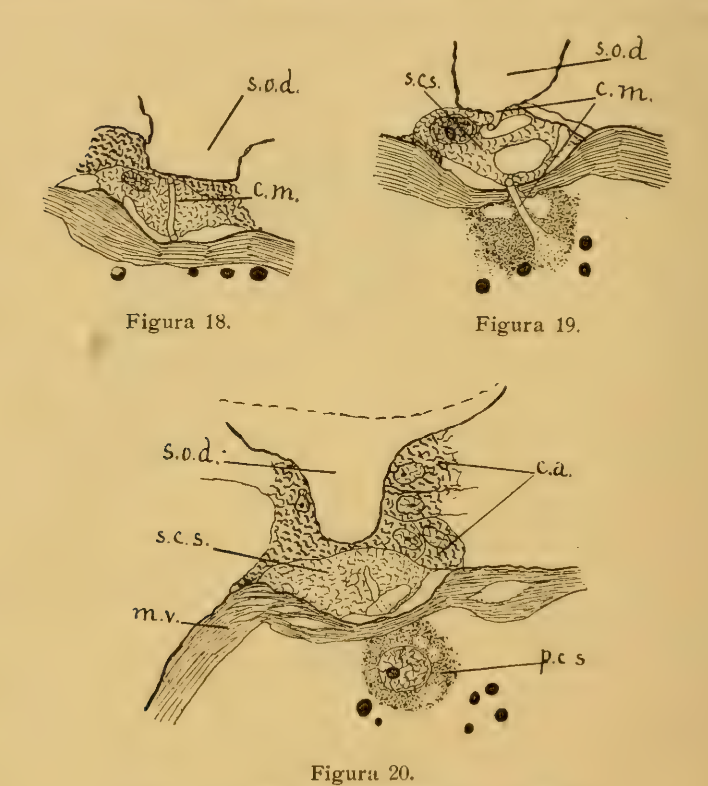


Figura 18.

Figura 19.

Figura 20.

Tres cortes de un mismo aparato micropilar. *c. a.*, células accesorias; *m. v.*, membrana vitelina; *s. o. d.*, espermi-ovi-ducto; *s. c. s.*, segunda célula suspensora; *p. c. s.*, primera célula suspensora; *c. m.*, canal micropilar. × 1.000.

Los bordes de la abertura no se ajustan, por ahora, completamente; sólo llegan hasta ponerse en contacto con el canal conductor, y vienen, por consiguiente, a dejar un pequeño agujero, que pudiéramos considerar como el *agujero micropilar* (figuras 16, 19 y 22), a través del cual pasa el conducto.

El conducto propiamente dicho es de forma cilíndrica, delgado, de una a dos μ de diámetro, y se extiende, algo flexuoso, desde el espermi-ovi-ducto hasta el interior del óvulo. Sus paredes toman con alguna intensidad la hematoxilina férrica. En su punto de comunicación con el espermi-ovi-ducto no presenta apenas ensanchamiento, se conserva con su mismo diámetro (figs. 16 y 19). Sigue enteramente cilíndrico, pasando al través de la célula superior, del micropilo de la membrana, y termina en el interior

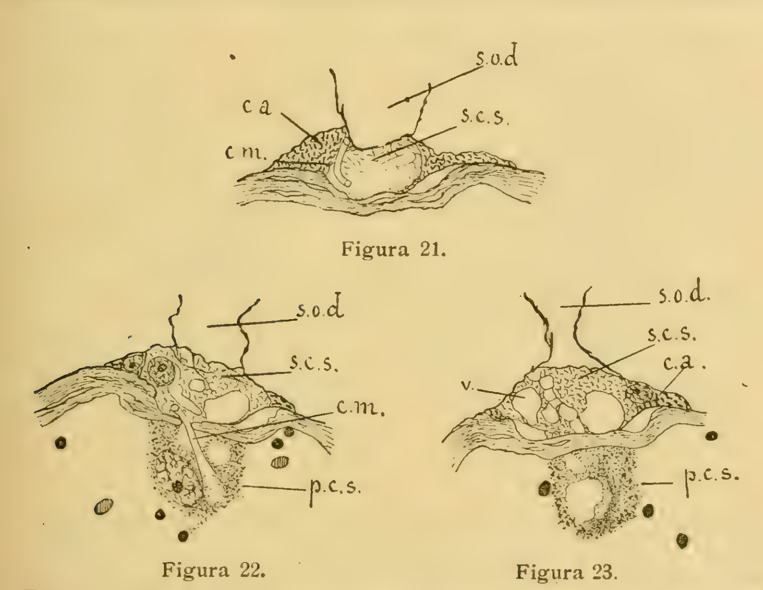


Figura 21.

Figura 22.

Figura 23.

Tres cortes de un mismo aparato micropilar. — *c. a.*, células accesorias; *s. o. d.*, espermi-ovi-ducto; *p. c. s.*, primera célula suspensora; *s. c. s.*, segunda célula suspensora; *c. m.*, canal micropilar. × 1.000.

del óvulo, en la primera célula, siempre cercano a su núcleo. La extremidad inferior es embudada (figs. 16, 19 y 22). El tubo cilíndrico está lleno de una substancia amorfa, incolora a los reactivos, que no contiene ninguna granulación, como puede verse perfectamente en la abertura que deja al desembocar en el óvulo (cuando se ha disuelto ya la membrana de la célula sumergida), formando a modo de vacuola (fig. 23). Por su extremo superior, como hemos dicho, desemboca libremente en el divertículo,

que en dicho lugar forma el espermi-ovi-ducto. Sin duda, la substancia que llena el tubo conductor micropilar se confunde con la que rellena el espermi-ovi-ducto. De aquí que, así como esta substancia sirve de conductor a los espermatozoos, cuando pasan por este último conducto, así también sirve para el mismo oficio, para atraerlos y facilitar su entrada, a través del canal micropilar, al interior del óvulo.

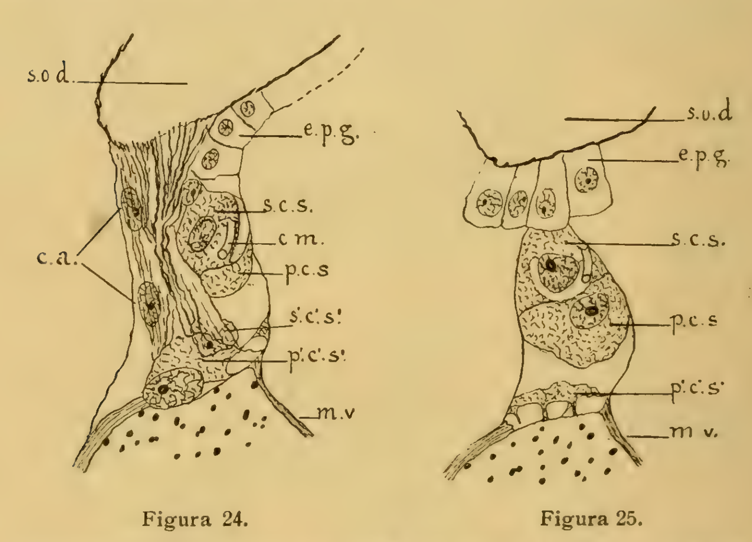


Figura 24. Figura 25.

Aparato micropilar en que intervienen cuatro células.—*p. c. s.*, primera célula suspensora formadora del canal; *s. c. s.*, segunda célula ídem; *p'. c'. s'.*, primera célula suspensora; *s'. c'. s'.*, segunda ídem; *c. a.*, células accesorias con numerosos tractus filamentosos; *e. p. g.*, epitelio germinativo. ×1.000.

Una vez ha penetrado el espermatozoo, las dos células suspensoras acaban de rehacer la membrana vitelina, degenerando enteramente, una al exterior y otra al interior de la misma. Las células adyacentes (fig. 20, *c. a.*), que vienen a representar el folículo ovárico de otros animales, degeneran también, y contribuyen entre todas a la formación del trozo de membrana, al mismo tiempo que permiten, con su desaparición, que se dilate grandemente el divertículo, que en ese lugar forman las paredes del espermi-ovi-ducto. De esta manera se forma, frente al

punto de suspensión del óvulo, un gran boquete o agujero, por el que el huevo es expulsado más tarde, penetra en el espermi-ovi-ducto, lo recorre hasta llegar a su porción posterior y sale al exterior por el conducto que dejamos descrito en otro lugar.

Hemos podido observar un caso, que por ser único lo consideramos como excepcional, pero que lo queremos dar a conocer porque da buena idea del modo cómo se lleva a término la formación del aparato micropilar. Las células que intervienen son cuatro: dos como suspensoras, y otras dos como formadoras del conducto. Las dos suspensoras (fig. 24) se encuentran unidas al espermi-ovi-ducto por un conjunto de filamentos del mismo. La célula inferior (*p'. c'. s'.*) está en íntimo contacto con la membrana vitelina, sobre todo el grueso núcleo, e impide el engrosamiento de dicha membrana. Esta célula está ya degenerando, por lo cual se ve llena de vacuolas; de modo que en el corte siguiente de la misma preparación (fig. 25) puede observarse que las vacuolas están descansando sobre la misma membrana vitelina, a la cual llegan únicamente algunos cordones de protoplasma. De la otra célula suspensora sólo se conservan restos encima de la anterior, como puede verse en la figura 24, *s'. c'. s'.*

Las otras dos células, formadoras del aparato micropilar, son mayores, y aún no se han puesto en contacto con el huevo (fig. 24). El conducto (*c. m.*) está ya formado en gran parte, y pasa al lado de una vacuola de la célula superior.

En el descenso del huevo son arrastradas también algunas células accesorias (fig. 24, *c. a.*), cuyos núcleos son alargados y mayores que los de las restantes del epitelio germinativo (*e. p. g.*), y están recubiertas por abundantes tractus filamentosos.

Período ovogonial.

Las células pertenecientes a todo este período, juntamente con las de las primeras fases del período meiótico, son las que

forman todo el epitelio germinativo, que, según queda dicho, ocupa la parte central del arco de células que abarca al ovario (fig. 1, *e. p. g.*). Las células que se encuentran en el período gonial son relativamente escasas y pequeñas; y de aquí la dificultad en poder obtener una serie completa de observaciones. Cosa sumamente deseable, aunque no constituya el fin principal que nos hemos propuesto en el estudio de la ovogénesis de la *Sagitta*.

Las células goniales están casi siempre adheridas directamente a la pared del espermi-ovi-ducto; por lo cual la porción de su membrana, que limita con dicho conducto, suele ser rectilínea, y presenta incrustaciones de substancia amorfa, que se tiñen intensamente por la hematoxilina férrica, como sucede con todas las células que se encuentran en semejante posición (figs. 35, 48 y 51).



Figura 26.
Formación de los cromosomas ovogoniales. ×2.250.

Las células ovogoniales en reposo tienen el núcleo ovalado, y es sumamente difícil reconocer en el mismo ninguna señal visible o figurada de cromatina. Parece uniforme por completo, y con el rojo Congo y la eosina se tiñe de un color rosado algo más intenso que el protoplasma.

El nucléolo está siempre presente: es redondeado, excéntrico y no presenta ninguna señal de vacuolización.

Sobre la membrana nuclear hay escasos cariosomas que no pueden confundirse con el nucléolo, pues son exteriores al núcleo, de formas irregulares y de grosor variable.

La primera manifestación de la cromatina que hemos podido apreciar es la representada en la figura 26. Los núcleos se encuentran recorridos por numerosos filamentos, más o menos pareados, que siguen direcciones flexuosas e indeterminadas, y

presentan frecuentes anastomosís de uno a otro, que los relacionan. El origen de estos filamentos pareados tiene lugar apareciendo primero algo esponjosos, luego se pierde ese esponjamiento y se determinan y concretan en filamento. Por lo menos así lo parecen indicar los núcleos representados. Efectivamente, sobre todo en el núcleo *b* de la derecha, se encuentra debajo del nucléolo un par de esos filamentos, que tiene una parte de los mismos todavía esponjosa y el resto ya definido y bien formado. Sobre las porciones ya formadas se depositan gránulos de cromatina algo espaciados, y de preferencia en los ángulos que forman las inflexiones.

Estos filamentos, más o menos pareados, una vez constituídos, se aproximan uno a otro, atraídos por las anastomosis que los relacionan, expulsan de su intermedio el jugo nuclear que los separaba, y se sueldan finalmente, dando origen a uno sólo, como puede verse en algunas porciones del filamento que hay a la izquierda superior del núcleo *a*. Así quedan formados los cromosomas goniales.

El nucléolo continúa presentando los mismos caracteres que antes: es redondeado, no ocupa lugar fijo en el núcleo, ni presenta vacuolización alguna; además suele estar relacionado con algún filamento. Se tiñe intensamente por la hematoxilina férrica.

A la membrana nuclear siguen adheridos algunos cariosomas, variables en número y figura, y aplastados.

El protoplasma es escaso y enteramente uniforme, de manera que no hemos podido distinguir en él ninguna formación especial. No se ve rastro alguno de centrosomas, ni del resto fusorial.

Tampoco se observa en la célula polarización que la oriente o disponga en una dirección determinada.

Los cromosomas goniales formados se contraen durante el resto de la profase, para lo cual suponemos que seguirán el mismo proceso que en los espermatogonios. Es decir, que primero son angulosos y de contornos irregulares, como corres-

ponde a su manera de originarse, ya que los cromosomas presentarán las mismas inflexiones que los pares de filamentos de que proceden, y la cromatina se acumulará en los lugares en que había gránulos y anastomosis. Después se regulariza la distribución de la cromatina, y quedan constituídos los 18 bastoncitos rectos, que son los cromosomas metafásicos.

Durante este tiempo desaparece la membrana nuclear con sus cariosomas, lo mismo que el nucléolo.

Los cromosomas, que en un principio están dispersos por la célula, se agrupan en la metafase (fig. 27), para formar la placa ecuatorial. No se observa en estos cromosomas la hendidura

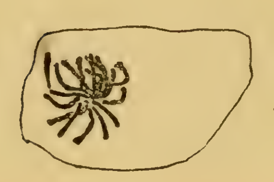


Figura 27.
Metafase ovogonial. Longitud de los cromosomas, 2'2 μ. ×2.250.



Figura 28.
Metafase espermatogonial. ×2.250.

longitudinal que tan manifiesta pudimos ver en la metafase de los espermatogonios (fig. 28). Pero, si recordamos que en la metafase espermatogonial, a medida que avanza, va obliterándose esa hendidura, hasta tal punto, que cuando están los cromosomas unidos a las fibras del huso, es imposible distinguirla, deduciremos que la metafase ovogonial, representada en la figura 27, está algo más avanzada que la espermatogonial de la figura 28. Esto mismo nos lo da a entender el hecho de que los cromosomas ovogoniales están más agrupados que los espermatogoniales, como más cercanos a la formación del huso.

Es de notar el exacto parecido que existe entre las dos metafases, ovogonial y espermatogonial, representadas; y que del mismo modo que en ésta no se puede reconocer ninguna reunión

de cromosomas por pares, así tampoco en la ovogonial podemos relacionar un cromosoma con otro. De unos a otros no hay más aproximación, que la que naturalmente resulta de la formación de la placa ecuatorial. Cada cromosoma es una unidad independiente y verdadera, contra lo que pretende DEHORNE (1910).

Cómodamente pueden contarse los 18 cromosomas goniales metafásicos.

La longitud de los cromosomas en este estado es aproximadamente de 2'2 μ como término medio.

Período meiótico o de reducción.

Conocido es el concepto que se tiene formado de la cinesis de reducción, considerada por algunos autores como una cinesis rápida, interpuesta entre dos cariocinesis ordinarias. Abarca las mismas etapas que éstas. En el estudio de esta cinesis de reducción en la ovogénesis de la *Sagitta bipunctata,* seguiremos la misma división que adoptamos en nuestro anterior trabajo (1914) sobre la espermatogénesis.

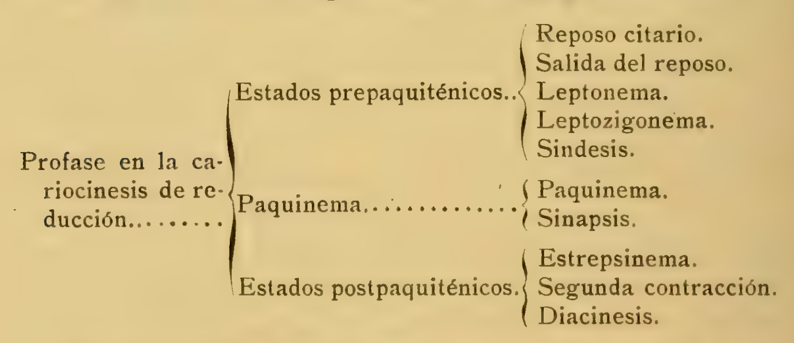
Debemos advertir que no hemos sido tan afortunados como en aquella ocasión, pues no nos ha sido posible llegar más que hasta la metafase I. El material empleado, procedente de la Estación Zoológica de Nápoles, en donde fué fijado por el profesor Lebrun, no nos ha ofrecido ocasión de poder certificar la expulsión del primer cuerpo polar y, por consiguiente, la terminación de la primera cinesis.

Mas esto no es grave inconveniente para el fin principal que nos hemos propuesto en el presente trabajo, que consiste en estudiar el proceso reductor, que tiene lugar en la ovogénesis de la *Sagitta*. Sabido es, como dejamos anotado en otro lugar (1914, pág. 24 y siguientes), que las etapas en las cuales se envuelve fundamentalmente la interpretación del modo de verificarse la reducción numérica de los cromosomas, son las que forman la *profase citaria;* ya que las demás etapas, meta-

fase, anafase y telofase, no hacen más que ordenar primero, y distribuir más tarde en las dos células hijas, los filamentos cromáticos, tales como se los ha preparado la profase. Por consiguiente, el estudio de las cinesis de reducción exige principalmente una investigación detallada y fina de la profase citaria, siendo indispensable seguir la evolución de los filamentos cromáticos, paso a paso, desde la salida del último reposo gonial hasta la inserción de los cromosomas definitivos en el huso de la metafase I.

En el material empleado hemos encontrado abundantemente representados todos los estados de dicha profase, lo cual nos ha permitido un estudio de la misma tan detallado como el de la espermatogénesis.

Al igual que en el estudio de ésta, dividiremos la profase citaria reductora, en la ovogénesis, en los siguientes estados:



Profase en la cariocinesis de reducción.........

- Estados prepaquiténicos..
  - Reposo citario.
  - Salida del reposo.
  - Leptonema.
  - Leptozigonema.
  - Sindesis.
- Paquinema..............
  - Paquinema.
  - Sinapsis.
- Estados postpaquiténicos.
  - Estrepsinema.
  - Segunda contracción.
  - Diacinesis.

De estos diversos estados, el que ocupa más tiempo y comprende mayor número de ovocitos es el *estrepsinema,* durante el cual tiene lugar principalmente el gran crecimiento del óvulo, característico de la ovogénesis; lo que indujo a GRÉGOIRE a modificar el conocido esquema de BOVERI.

1.—Estados prepaquiténicos o prespiremáticos.

Al exponer el estado de la cuestión en las primeras páginas de este trabajo, hicimos notar que BUCHNER afirma que los ovo-

citos, al salir de la última división gonial, se presentan ya en el estado de *bouquet*, durante el cual es imposible distinguir o averiguar el modo cómo tiene lugar la sindesis o unión de los filamentos cromatínicos. Estos cromosomas del *bouquet*, que son ya en el número reducido de nueve, se colocan directamente en el huso acromático durante la metafase.

N. M. STEVENS afirma también (1903) que los cromosomas del paquinema derivan directamente de la última división gonial, sin pasar por ningún estado de reposo. Omite, por consiguiente, al igual que BUCHNER, la existencia de los estados prepaquiténicos.

Esas observaciones son deficientes, como vamos a ver.

Salida del reposo.—No hemos podido observar el *reposo citario*. La escasez de elementos en ese estado nos da a entender que es un estado de corta duración.

Realmente, todos los estados prepaquiténicos adolecen de ese inconveniente, y esa debe ser la causa porque han pasado inadvertidos a otros observadores. Así es que nos vemos precisados a comenzar la descripción por la *salida del reposo y formación de los filamentos cromatínicos*.

Las figuras 29, 30, 31, 32 y 33 representan diversos aspectos de ese estado. La analogía sorprendente que tienen con iguales estados en la espermatogénesis, bastaría para que pudiésemos considerar estos núcleos como los representantes de la salida del reposo.

Las células son algo menores que las del período gonial y contienen un núcleo ovalado o esférico: más frecuentemente ovalado. Todo el interior del núcleo está recorrido en diferentes direcciones por los filamentos cromatínicos incipientes. Aparecen estos filamentos con un contorno incierto y poco definido, que se acentúa e individualiza de trecho en trecho, mientras que en otras porciones desaparece, al menos aparentemente, en el fondo nuclear (fig. 29, *a*).

En las porciones, en las cuales no se ha individualizado aún el

filamento, se ve claramente que su estructura es alveolar y reticulada; y que, apretándose y rellenándose sus huecos, es como el filamento termina su constitución definitiva. Así puede verse perfectamente en los varios núcleos que presentamos.

Cierto es que, a veces, el filamento aparece como formado de otros dos más finos y delicados que corren paralelos (figs. 29 y 33), y que terminarían por juntarse, como afirman algunos autores (DEHORNE, BONNEVIE). Mas en nuestro caso, dado el modo predominante de presentarse, que es el de alveolización, y dada la relación que dichos filamentos dobles guardan con las



Figura 29.
Salida del reposo citario y formación de los cromosomas. ×2.250.

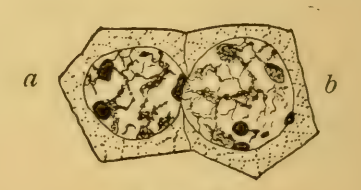


Figura 30.
Salida del reposo citario y formación de los cromosomas. ×2.250.

porciones alveolizadas o bandas rellenadas, nos parece más lógico interpretar dichos filamentos paralelos como los bordes de una banda, cuya porción central se encuentra en estado atrasado de relleno o reticulación, que no considerarlos como dos filamentos más o menos independientes que se reunen para dar origen al definitivo.

Mucho menos podemos aplicar a nuestro caso el modo de formación encontrado por BONNEVIE, que consiste en que los filamentos dobles y delgados se arrollan en espiral uno sobre otro.

En la ovogénesis de la *Sagitta* se verifica la salida del reposo citario exactamente como dejamos explicado en la espermatogénesis.

Los filamentos no siguen, en general, orientación alguna predominante, si bien podríamos hacer notar que en muchas ocasiones se encuentran apoyados y como si irradiasen del nucléolo.

Además de este tipo de núcleos en salida del reposo, se presenta, aunque no con tanta frecuencia, otro tipo (fig. 31), en el cual los filamentos y bandas alveolizadas se encuentran formando marcados paralelismos y orientados todos más o menos hacia el mismo polo del núcleo. De aquí que el punto en el que convergen los filamentos, aparece rellenado y oscuro a causa del cúmulo de elementos reunidos.

Encuéntranse también otros núcleos (fig. 33, *c)* que presentan muy precozmente el fenómeno de la primera contracción o sinapsis. Los filamentos se amontonan y comprimen en un lado del núcleo, dejando libre una gran porción de la cavidad nuclear.

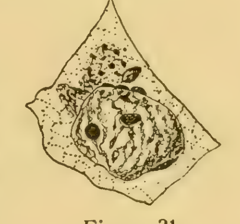


Figura 31.

Salida del reposo citario y formación de los cromosomas por bandas polarizadas. ×2.250.

Pueden también observarse varios ejemplos en los que los filamentos se encuentran no sólo orientados hacia el mismo lado de los núcleos y apoyados sus extremos en la membrana nuclear, sino que además están formando pares, en los cuales es muy de notar la simetría que ofrecen.

A nuestro modo de ver, la aparición de los filamentos cromatínicos en la salida del reposo tiene lugar, en definitiva, de la siguiente manera. Sobre las bandas o armazones, digámoslo así, de linina ya existentes, se deposita lentamente la cromatina, comenzando de ordinario a depositarse por los bordes y por los extremos. Por este motivo aparecen trozos de bandas ya concretas por sus extremos y con los bordes bien marcados, en tanto que su parte media está ocupada aún por regiones incoloras, en las que todavía no ha tenido lugar la precipitación de la cromatina, dispersa por el jugo nuclear (figs. 29, 30, 32 y 33, *a*). Más adelante, esas bandas acaban de rellenarse y recorren el núcleo en direcciones indeterminadas aunque en relación con el nucléolo (fig. 33, *b*), y presentando con frecuencia pares de filamentos paralelos (figs. 29 y 33, *a*), que en ocasiones llegan a entrecruzarse (figs. 33, *b,* y 32 izquierda).

Ese paralelismo sigue acentuándose hasta que, cuando están constituídas las bandas, o la mayor parte de ellas, se encuentran orientadas hacia un polo del núcleo (fig. 31), en el que se amontonan, aproximándose por sus extremos libres, independientemente del nucléolo, y con el resto de la banda extendido por la cavidad nuclear. Algunos núcleos entran prematuramente en sinapsis, fenómeno qne de ordinario suele presentarse más tarde, aunque en las inmediaciones de los estados que describimos, y, por de pronto, siempre (cuando existe) dentro del estado prepaquiténico.



Figura 32.
Salida del reposo citario y formación de los cromosomas. ×2.250.



Figura 33.
Formación del leptonema. ×2.250.

Estos núcleos, cuando no están excesivamente contraídos, permiten ver que los extremos de los filamentos cromatínicos son libres y, por consiguiente, permiten afirmar que el ovillo nuclear no es un filamento continuo que se fracciona más tarde en un número determinado de trozos, sino que son trozos sueltos desde un principio.

El nucléolo no falta nunca, como no sea por excepción, en los núcleos contraídos (fig. 33, *c*), que son también excepcionales en su desarrollo avanzado. Ocupa indiferentemente cualquier lugar del núcleo, pero casi siempre en relación con alguna banda cromática. A veces se le encuentra completamente aislado. Es redondeado y no suele presentar signos de degeneración.

Sobre la membrana nuclear hay adheridos multitud de cuer-

pos periféricos, o cariosomas «Randkörper» de BUCHNER, de formas irregulares, inconfundibles con el nucléolo, y en cuya descripción nos hemos ocupado en otro lugar (pág. 23).

La membrana nuclear es bien visible.

El protoplasma es uniforme. Se ven en el mismo varias formaciones, sobre las cuales no hacemos más que consignar su existencia, sin entrar en su estudio. Una de ellas tiene forma ovalada (fig. 29, *b*), a modo de anillo, con dos prolongaciones. A su alrededor se acumulan las granulaciones (sin duda mitocondrios esféricos), que son sumamente pequeños. Esta formación persiste al través de las mutaciones citarias (figs. 50 y 55, *a*), hasta que comienza el período de gran crecimiento, en cuyo caso desaparece (fig. 54).

Otra formación notable consiste en una esfera (fig. 31)—que, cuando se pone en contacto con la membrana nuclear, toma la forma hemisférica (figs. 40 y 41)—constituída por numerosos y pequeñísimos gránulos, entre los cuales predominan o se destacan unos cuantos más gruesos, que se sitúan en la periferia. Su existencia queda también limitada al período prepaquiténico. ¿Pudiera ser eso la formación mitocondrial que algunos autores (DUESBERG, MEVES, etc.) han señalado en el desarrollo de otros ovocitos?

Finalmente, hemos observado otras acumulaciones de material protoplasmático (fig. 33), junto a la membrana nuclear, alrededor de un cuerpo más condensado de forma elipsoidal. Parece como si este material protoplasmático se precipitara a veces sobre el cuerpo que le sirve de centro, dando origen a una formación de contornos definidos (figs. 35, 36, 38, 47, 48 y 55, *a*), que no puede confundirse con un cariosoma. Su forma es más irregular que la de los cariosomas, y se tiñe menos intensamente. Tal vez sea el llamado resto fusorial.

Las células son pequeñísimas. Su diminuto tamaño ha sido un obstáculo para que algunos autores pudieran llevar a cabo sus observaciones. He aquí algunas medidas que servirán de punto

de partida para las que sucesivamente iremos dando en los diversos estados del desarrollo citario del óvulo.

Figura 30: diámetro de la célula *a*, 7'5 μ; ídem del núcleo, 6'2 μ; superficie del núcleo, 120 μ^2.

Figura 29: diámetro de la célula *a*, 16 μ; ídem del núcleo, 10 × 5'5 μ.

Figura 31: diámetro del núcleo, 6'6 μ.

Leptonema.—El leptonema en la ovogénesis de la *Sagitta* no se presenta con el mismo aspecto que en la espermatogénesis, aunque es del mismo tipo. En la espermatogénesis los filamentos se presentan con un aspecto varicoso en un principio, y paulatinamente van tomando la forma de filamentos cromatínicos bien definidos. A veces, en los núcleos leptoténicos más primitivos, que siguen inmediatamente a la salida del reposo, puede observarse que sus filamentos presentan todavía indicios de la vacuolización, con que aparecieron a la salida del reposo. En la ovogénesis no nos ha sido dado sorprender esos estados más primitivos: los núcleos leptoténicos que hemos encontrados los vemos ya con los filamentos bastante bien formados y definidos (fig. 34), si bien aún conservan un aspecto algo tortuoso, que lo podemos considerar como indicio de las varicosidades primitivas, que lo formaron, al igual que en la espermatogénesis.



Figura 34.
Leptonema. × 2.250.

No hay en estos núcleos aparejamientos bien manifiestos que nos autoricen a llamarle núcleo *leptozigoténico,* pero puede observarse una polarización bien manifiesta de los filamentos hacia uno de los lados de la membrana nuclear, en tanto que la porción media de los mismos rellena todo el espacio restante.

Un punto muy digno de ser comprobado es el relativo a saber si es un solo filamento, muchas veces arrollado, el que forma el núcleo, o bien si son varios filamentos sueltos e independientes y más o menos entrelazados. No hemos podido observarlo direc-

tamente. Sin embargo, en el estado anterior, y precisamente cuando las bandas comienzan a concretarse en filamentos definidos (fig. 33, *a*), hemos podido ver sus extremos libres apoyados sobre la membrana nuclear o muy próximos a ella. Por consiguiente, podemos deducir con fundamento que también en el estado del leptonema continúan libres e independientes. Además, en la descripción del estado análogo en la espermatogénesis, pudimos comprobar que realmente los filamentos, ya constituídos, se apoyan en la membrana nuclear por sus extremos libres.

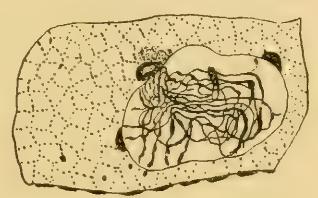


Figura 35.
Zigonema. Conjugación parasindética de los filamentos. ×2.250.

Sería también de gran utilidad, por su mucha importancia, poder contar en este estado, al igual que en el anterior, el número de filamentos cromatínicos que hay en el núcleo, para podernos cerciorar de que son tantos como cromosomas goniales, que son 18. Mas esto es imposible, tanto en este estado como en el de salida del reposo, a causa del intrincado camino que siguen, y principalmente a causa de que en tan reducido espacio han de reunirse todos los filamentos, dando origen al apelotonamiento cromatínico, conocido con el nombre de *ovillo nuclear*.

El nucléolo es redondeado y perfectamente visible.

El tamaño del ovocito no ha experimentado ningún cambio notable.

Zigonema.—Del estado anterior pasamos naturalmente al de *zigonema* o *sindesis,* representado en la figura 35. En este estado se concretan y definen los paralelismos y aparejamientos, esbozados en el precedente. Este es uno de los estados de mayor importancia en el estudio de la ovogénesis, como ya dejamos advertido en otro lugar.

Sabido es que los autores que estudian el problema de la reducción numérica de los cromosomas, se dividen en dos gran-

des escuelas: los *parasindetistas,* o partidarios de la conjugación paralela de los cromosomas goniales, y los *metasindetistas,* o partidarios de la conjugación por los extremos, *end to end.* Esta unión o aproximación de los filamentos cromatínicos, que recibe el nombre de *sindesis,* es la que realiza el primer paso para la reducción numérica. De aquí que en todo estudio detallado de las cinesis de maduración, no puede prescindirse del estudio de este estado de la profase citaria.

En nuestro caso creemos que es bien claro el modo de verificarse la sindesis. La figura 35 sigue naturalmente y sin violencia alguna al estado representado en la figura 34. Los filamentos cromatínicos, que en el leptonema siguen direcciones varias, pero sin paralelismos bien manifiestos, no sólo se han orientado manifiestamente hacia un lado del núcleo, sino que se agrupan paralelamente, de dos en dos, desde sus extremos; y aun hay caso en que los extremos de dos filamentos se han aproximado tan íntimamente, que han dado lugar a la formación de un cordón más grueso. El zigonema, por lo tanto, es evidente.

La misma polarización, que, según hemos hecho notar, se manifiesta en algunos núcleos del leptonema, no es más que una prematura manifestación del zigonema subsiguiente. Porque, en realidad, si los filamentos del zigonema debieran unirse o relacionarse únicamente *end to end,* no habría razón alguna para que debieran aproximarse por pares en toda su extensión y converger sus extremos, como se ve aquí. En cambio, esta polarización y manifiesto paralelismo tienen adecuada explicación en el supuesto de una conjugación *side by side* o parasindética.

Además, puede admitirse como ley general que la sindesis tiene lugar dentro del mismo tipo en los dos sexos. Precisamente es de maravillar, como dice BUCHNER, que STEVENS admita la conjugación *end to end* para la espermatogénesis, y defiende la conjugación *side by side* en la ovogénesis. BUCHNER, como ya vimos en las primeras páginas, defiende la conjugación por

metasindesis, pero sin apoyarla en observación alguna, y únicamente porque los filamentos de su figura 12 (que, a nuestro modo de ver, representa el estrepsinema incipiente) le parecen excesivamente delgados, para que en ellos pueda reconocerse la conjugación parasindética.

Más adelante, al discutir las opiniones, veremos en qué consiste fundamentalmente su error.

El zigonema que estamos describiendo no se presenta enteramente análogo al que describimos en la espermatogénesis. Vimos allí que los filamentos del leptozigonema se ofrecen arrosariados y varicosos, y que con mucha frecuencia se entrelazan y arrollan mutuamente unos en otros, dando origen a bucles. Después, al definirse más el paralelismo y aproximación de los filamentos, resultan otros más lisos, pero que dejan reconocer todavía el entrecruce de unos con otros por el mayor grosor con que se presenta la sindesis en los puntos de cruce. En la ovogénesis el caso es algo diferente: los filamentos del leptonema se presentan lisos o casi lisos desde su origen, y no se observan mutuos arrollamientos en forma de bucles. De aquí resulta que, al iniciarse el zigonema, los filamentos tampoco se presentan varicosos, sino lisos y sin entrelazarse unos con otros.

Esto, sin embargo, no quiere decir que no tenga lugar su arrollamiento mutuo, más adelante en el estado siguiente. Hasta lo creemos probable. Lo único que decimos es que los núcleos, que nos ha sido posible observar, todos son del tipo de la figura 35, que no lo presentan.

Otra cosa queremos recordar por su mucha importancia. Vimos anteriormente que la salida del reposo tiene lugar con la aparición de bandas y que esas bandas, condensándose cada vez más, dan origen a los filamentos del leptonema. Acabamos ahora de ver que, aproximándose paralelamente dos de esos filamentos, es como se originan las figuras del zigonema. Por consiguiente, cada par de filamentos representa un par de bandas cromatíni-

cas. Ahora bien, si admitimos que cada banda cromatínica es un cromosoma gonial, como parece probable, deduciremos lógicamente que cada dualidad zigoténica está formada por dos cromosomas goniales; y que, por lo tanto, está iniciándose ya la reducción numérica de los cromosomas por parasindesis, como vimos también en la espermatogénesis.

El nucléolo ha desaparecido durante el paso del anterior estado al que estamos describiendo.

La membrana nuclear es bien visible. Sobre la misma se encuentran adheridos los cariosomas, cuyo número, figura y situación no han cambiado.

También encontramos lo que, según dejamos indicado, pudiera ser un resto fusorial, colocado en la parte superior izquierda del núcleo, al exterior.

El protoplasma es uniforme, o presenta muy escasos y pequeños gránulos. Aunque hemos visto algunos de éstos muy próximos a la membrana nuclear, no hemos podido distinguir a su alrededor ninguna condensación o modificación del protoplasma, que hiciera sospechar fuesen los gránulos del centrosoma.

Tanto el tamaño del núcleo como el de todo el ovocito, no han cambiado sensiblemente.

Este estado, como todos los prepaquiténicos, es de corta duración, y sus células muy escasas en las preparaciones. Se encuentran casi siempre adheridas todavía a la pared del epitelio germinativo y aun a la pared misma del espermi-ovi-ducto, razón por la cual un lado de la membrana aparece engrosado con la substancia amorfa que, en forma de tractus o tirantes, cubre la pared de dicho conducto.

Núcleos sinápticos.—La *sinapsis* o *primera contracción* del núcleo es un fenómeno que suele presentarse alrededor de los estados que estamos describiendo. Por muchos autores no es considerada como un estado del desarrollo nuclear, sino simplemente como un fenómeno accesorio, que puede muy bien faltar, sin que por eso se altere en lo más mínimo la marcha del des-

arrollo citario. Autores hay también que llegan a considerarla como una anormalidad producida, en parte, por la técnica empleada. Otros, en cambio, lo consideran como fenómeno normal. En otro trabajo (1914, pág. 80) dejamos apuntadas las razones aducidas en pro y en contra de la existencia normal de este estado o fase.

En la *Sagitta* se presenta, tanto en la espermatogénesis como en la ovogénesis. En la espermatogénesis el núcleo sináptico sigue inmediatamente al paquinema, o mejor dicho, ambos coexisten; ya que, de ordinario, se encuentra bien formado únicamente en los poliplastos paquiténicos.



Figura 36.
Sinapsis o primera contracción nuclear. ×2.250.

En la ovogénesis, por el contrario, la sinapsis sigue inmediatamente al núcleo zigoténico, y precede, por consiguiente, al paquinema. Los filamentos cromatínicos se han apelotonado a un lado del núcleo, en contacto con la membrana nuclear, dejando vacía una gran porción de la cavidad (fig. 36). Ha disminuído considerablemente su longitud, por lo cual ha aumentado su grosor. Sus contornos son algo irregulares y un tanto arrosariados, lo cual nos hace sospechar que ha tenido lugar un arrollamiento mutuo de uno sobre otro, comparable al que tan evidentemente se observa en el espermatocito. Debido al apelotonamiento y contracción que han sufrido los cromosomas, es imposible descifrarlos y seguirlos en toda su longitud. Únicamente algunos extremos y alguna que otra asa o porción media pueden distinguirse, cuando se proyectan en buenas condiciones de observación.

De la masa de cromosomas salen a veces pequeños filamentos, sumamente delicados, que la unen a las paredes de la cavidad nuclear, como han observado también otros autores en diferentes objetos.

¿Hay fusión y compenetración *real* de los cromosomas unos con otros, de manera que la sinapsis indique que se ha formado una masa cromatínica única? No lo creemos probable. En primer lugar por lo que describimos en la espermatogénesis, en la cual probamos que no tiene lugar la fusión de los cromosomas. Y en segundo lugar porque, como puede observarse, no forman los cromosomas una masa enteramente homogénea, sino que es dable distinguir numerosas porciones de asas, si bien no es posible seguir ninguna de ellas en toda su longitud, como dijimos antes.

Por lo demás, este estado es de muy corta duración, y son muy escasos los núcleos que pueden observarse.

El nucléolo ha desaparecido.

La membrana nuclear es bien visible y entera. El desgarro, que presenta el núcleo que hemos dibujado, es un accidente fortuito. Sobre dicha membrana subsisten los cariosomas de los estados precedentes.

Encuéntrase también adherido a la misma el que podría ser resto fusorial, de contornos bien definidos.

El protoplasma no ofrece ninguna particularidad digna de mención.

El tamaño, tanto de la célula en conjunto como el del núcleo, no ha experimentado cambio alguno notable.

Las células en sinapsis se encuentran, al igual que las anteriores, adheridas inmediatamente al epitelio germinativo.

II.—**Paquinema o «bouquet».—Desdoblamiento longitudinal.—Primera fase del crecimiento del ovocito.**

Todos los estados que acabamos de describir han pasado desapercibidos a Stevens y Buchner, quienes comienzan la descripción de la ovogénesis por el estado del paquinema. En las primeras páginas de este trabajo expusimos sucintamente las observaciones de estos autores, y a ellas remitimos al lector.

El paquinema es absolutamente clásico en la ovogénesis de la *Sagitta* (figs. 37, 38, 39, 40 y 41). El parecido de estas figuras hasta con paquinemas observados en animales tan diferentes de la *Sagitta*, como en el *Lepus*, estudiado por WINIWARTER, es altamente sorprendente.

Las asas cromosómicas manifiestan con evidencia su individualidad, saliendo del estado de apelotonamiento de la sinapsis. En el primer tiempo del paquinema estas asas están perfectamente orientadas hacia un polo del núcleo, dando origen a la clásica figura, conocida con el nombre de *bouquet* (figs. 37, 38 y 39), en un todo análoga a la observada en la espermotogénesis. Las asas cromosómicas están dobladas en U y constituyen la conocida fase de los *cromosomas en horquilla*. Por sus dos extremos se apoyan sobre la membrana nuclear y por su porción media se dilatan, ocupando gran parte de la cavidad. Se entrelazan frecuentemente y de distintas maneras unas con otras, pero sin confundirse, ni fusionarse, ni presentar los pequeños filamentos de comunicación de unas a otras, que observamos en el paquinema del espermatocito.



Figura 37.
Paquinema clásico en *bouquet*. ×2.250.

La individualidad e independencia de cada asa es innegable.



Figura 38.
Paquinema clásico en *bouquet*. ×2.250.

Al igual que en la espermatogénesis, es muy factible, en este estado, contar el número de asas, que es 9, número ya reducido; siendo, por lo tanto, el paquinema el estado en que se manifiesta evidentemente la reducción, iniciada al aparearse los filamentos cromosómicos primitivos en el núcleo zigoténico. En el núcleo de la figura 37 se reconocen perfectamente siete asas paquiténicas: en el de la figura 38 cuatro, por lo menos; en la

figura 39 también siete. Las restantes asas han sido separadas por la navaja en otra porción de núcleo.

De este estado de perfecta orientación polar, se pasa insensiblemente al de dispersión de las asas por toda la cavidad del núcleo. Comienzan primero por aumentar su longitud y deshacer los entrelazamientos que las reunen, al mismo tiempo que se agranda la cavidad nuclear (fig. 39). Pierden poco a poco su polarización y acaban por encontrarse dispersas por todo el núcleo (figs. 40 y 41), sin orientación fija, ni relación alguna de unas con otras. Este es el primer paso para el estado siguiente. En el núcleo de la figura 40 pueden contarse con comodidad las nueve asas.



Figura 39.
Paquinema algo distendido. ×2.250.

Al mismo tiempo que tiene lugar esta dispersión se verifica un fenómeno importantísimo. En las asas del paquinema clásico (fig. 37) no se distingue (al menos en preparaciones ordinarias no sometidas a enérgica decoloración por el alumbre de hierro) señal alguna de separación entre las dos ramas o porciones longitudinales que constituyen el cromosoma en el paquinema. Mas apenas se inicia la dispersión de las asas por la cavidad nuclear, comienzan también a aparecer indicios de la separación de las dos mitades que las formaron. Ya en la figura 39 puede notarse lo que decimos: precisamente las dos más largas (las dos que presentan dos inflexiones en ángulo recto), y que, por consiguiente, están más avanzadas en su crecimiento citario, presentan puntuaciones claras en medio del grueso del asa en sus porciones extremas. Esta fenestración sigue acentuándose paulatinamente, hasta ser



Figura 40.
Paquinema. Las asas dispersas por la cavidad nuclear. ×2.250.

muy manifiesta en el núcleo de la figura 41, visible sobre todo en el asa, que ha sido arrastrada fuera del núcleo y en otras dos que han quedado dentro de él.

El motivo por el cual esta separación longitudinal de las dos porciones constitutivas del asa paquiténica tiene lugar de ese modo fenestrado es bien evidente. Hicimos notar que en la sinapsis se presentan las asas con aspecto algo arrosariado, y dijimos que era indicio de que los dos filamentos constitutivos pudieran haberse entrelazado uno con el otro, arrollándose a manera de bucle, como sucede en los núcleos espermatocitarios. En correspondencia, pues, con ese entrelazamiento aparecen las fenestraciones en los lugares en que los dos filamentos se ofrecen a la observación colocados de plano. Además, hay que tener en cuenta que, durante la primera contracción, tiene lugar, como ya hemos visto, una íntima aproximación y contacto de las asas, unas con otras, y aun llegan a entrelazarse, como se comprueba observándolas al salir de ese estado (figs. 37 y 39), en que conservan todavía dichos entrelazamientos. Ahora bien; dada la plasticidad de la substancia cromática, es muy natural que se verifiquen adherencias entre los diversos elementos que intervienen en el fenómeno. De aquí que, al venir el estado del desdoblamiento longitudinal, se vean algunos tractus de substancia que no se han roto todavía y que relacionan una porción de asa con su congénere, y pueden también relacionar unas asas con otras, aunque de un modo pasajero. Así se comprende perfectamente el aspecto fenestrado que presentan las asas del paquinema, cuando comienzan a dar señales de la separación longitudinal de sus dos filamentos constitutivos.

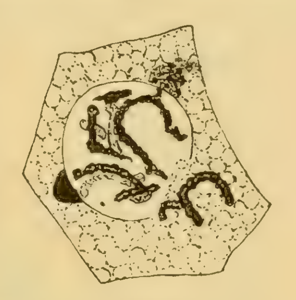


Figura 41.

Paquinema. Reaparición de la separación longitudinal de sus dos filamentos componentes. ×2.250.

Más tarde veremos que el aspecto que presenta el estrepsinema confirma plenamente esta interpretación.

En la espermatogénesis vimos esto palpablemente en los núcleos que reproducimos aquí para mayor claridad (figs. 42, 43 y 44). En estos núcleos se ve cómo después de haber tenido lugar la adherencia de las partes que constituyen un asa, y también la adherencia de un asa con otra, durante la sinapsis, se conservan numerosos tractus de substancia cromática que las relacionan al verificarse la separación y alejamiento de cada una de esas partes en el crecimiento estrepsiténico.

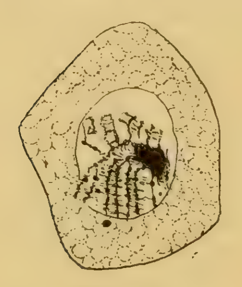


Figura 42.
Paquinema hendido en el espermatocito. Vista lateral. ×2.250.

No nos ha sido dado encontrar esos núcleos tan demostrativos en la ovogénesis que estamos estudiando. Pero el exacto parecido del paquinema del ovocito con el mismo estado del espermatocito, nos afianza en la creencia de que el desdoblamiento tiene lugar en las mismas condiciones en uno que en otro. Y más aún teniendo en cuenta el aspecto del núcleo estrepsiténico, que luego vamos a describir.

Además de ese desdoblamiento, digámoslo así, fenestrado, hay otro muy notable, que carece de entrelazamientos, y está en perfecta correspondencia con la zigotenia que queda descrita (pág. 39). Ese nuevo aspecto es el representado por el núcleo *a* de la figura 55. En él se evidencia cómo las asas paquiténicas conservan todavía la polarización propia del *bouquet*, apoyándose sobre la membrana nuclear. La porción media de estas asas se extiende por el resto de la cavidad, que ya se ha ensanchado notablemente. Estas porciones medias están ya desdobladas, casi no



Figura 43.
Paquinema hendido en el espermatocito. Vista polar. ×2.250.

presentan entrelazamientos y no dejan la menor duda de que su origen es precisamente debido a la división longitudinal del cordón grueso del paquinema. Pues así como vimos en el zigonema (fig. 33, *a, c*) que la aproximación comienza a verificarse por los extremos y va corriéndose paulatinamente hacia el medio del asa; ahora, por el contrario, el desdoblamiento comienza por la porción media y va corriéndose hacia los extremos, razón por la cual estos extremos se ven aún gruesos y sin desdoblar.

El fenómeno es exactamente igual al descrito en la espermatogénesis. He aquí lo que decimos en aquel caso: «Hemos advertido anteriormente que la conjugación de los filamentos comienza por sus extremos y que, hacia el medio del asa, los filamentos presentan casi siempre una separación bastante notable. Pues bien; también aquí observamos el mismo fenómeno: la «hendidura» o separación es casi siempre más pronunciada en el medio que en las porciones terminales del asa» (1914, pág. 83).



Figura 44.
Paquinema hendido en el espermatocito. Vista lateral. ×2.250.

La formación y separación de las asas del paquinema se adapta con exactitud a la descripción que dan H. J. Snook y J. A. Long en el estudio de los estados parasinápticos del *Aneides lugubris*. Comienzan los filamentos del leptonema a unirse primero por sus extremos, *side by side,* paralelamente, dando origen a figuras en forma de V; la conjugación parasindética va corriéndose, transformándose las figuras anteriores en otras en forma de Y, hasta que, finalmente, resultan las asas paquiténicas. El desdoblamiento es inverso: aparecen primero las figuras en forma de Y (fig. 55, *a*), para terminar por las figuras en forma de V y por el aislamiento total de los filamentos conjugados.

Las porciones que están ya separadas unas de otras se presentan algo granulosas y arrosariadas; fenómeno parecido al que hicimos notar en la descripción del núcleo del leptozigonema del espermatocito, pero que aquí tiene significación distinta. Pues allá es efecto de la precipitación o condensación de la cromatina en forma de gránulos sobre el andamiaje de la banda de linina: aquí, en cambio, esa granulación está íntimamente ligada con el crecimiento del ovocito, y es el primer paso para la depuración que va a sufrir el cromosoma durante el período de gran crecimiento; de modo que más bien constituye un desprendimiento o pérdida de cromatina.

Estos núcleos paquiténicos desdoblados y los del zigonema (pág. 38) se confirman mutuamente en el procedimiento de verificarse la reducción numérica de los cromosomas por parasindesis pseudomeiótica.

Del nucléolo no queda vestigio ninguno visible, pues no conceptuamos como a tal el gránulo que aparece en el núcleo *a* de la figura 55, y que más bien relacionamos con los gránulos esféricos descritos por STEVENS y otros autores como adheridos a algunos cromosomas.

La membrana nuclear es visible y entera. Los cariosomas que hay sobre ella son escasos y del mismo contorno irregular que en los estados anteriores.

Sobre la misma membrana subsiste adherido el problemático resto fusorial de contornos bien definidos (fig. 38).

En el protoplasma, que en general es uniforme, se observa la formación anillada con los extremos libres y prolongados en forma de corbata (fig. 55, *a*), que mencionamos anteriormente.

Encuéntrase también la acumulación mitocondrial de forma hemisférica, pegada a la membrana nuclear. Las mitocondrias son pequeños granos, que se agrupan, dando origen a una media esfera en cuya superficie se colocan los granos más gruesos; y aun parece que hay un finísimo filamento que une y relaciona estos granos mayores.

El tamaño de la célula y del núcleo comienza a marcar, con su aumento, el primer paso para el gran crecimiento del ovocito. He aquí algunas medidas:

Figura 37: diámetro del núcleo, 8 μ; diámetros de la célula, 11 × 15 μ.

Figura 39: diámetro del núcleo, 9'8 μ; diámetros de la célula, 11 × 12 μ.

Figura 55: diámetro mayor del núcleo *a*, 12 μ; diámetros de la célula, 17'7 × 15 μ.

Si recordamos que el núcleo *a* de la figura 30 mide 6'2 μ de diámetro y la célula 7'5 μ, veremos que el núcleo ha duplicado su diámetro y cuadruplicado aproximadamente su volumen.

Estas células se encuentran de ordinario adheridas aún directamente al epitelio germinativo. Sin embargo, cuando se inicia el desdoblamiento longitudinal, comienzan ya a apartarse de dicho epitelio (fig. 55, *a*) y a quedar relacionadas con él por medio de las células suspensoras, que originan el aparato micropilar, y por las accesorias, que son arrastradas con los ovocitos al hundirse éstos en la cavidad del celoma (figs. 13 y 20, *c*, *a*).

III. — Gran crecimiento del ovocito. — Estados postpaquiténicos. — Núcleos estrepsiténicos.

El crecimiento que ha experimentado el ovocito hasta el estado en que acabamos de dejarlo, es análogo al que experimenta el espermatocito durante toda la profase citaria. En efecto, los mayores núcleos, que pudimos observar en la espermatogénesis, no pasan de 9'8 μ de diámetro, es decir, idéntico al que mide el núcleo paquiténico de la figura 39 en la ovogénesis.

Mas a partir de este momento, y tan pronto como empieza a manifestarse la «hendidura» longitudinal de las asas, y la separación de los filamentos, crece de una manera extraordinaria el núcleo y el ovocito entero, justificando (por lo que a la ovogénesis se refiere) la adición de un nuevo y ancho triángulo o tra-

pecio al conocido esquema, que BOVERI dió para las génesis de las células reproductoras. Apenas se esboza el desdoblamiento longitudinal, el diámetro del núcleo del ovocito supera al del espermatocito en su máximo desarrollo. El núcleo *a* de la figura 55 mide ya 12'2 μ de diámetro; y la célula entera 17'7 μ. Siguen ambos creciendo incesantemente hasta alcanzar un diámetro máximo de 16 μ para el núcleo y 329 μ para el huevo.

En correspondencia con ese gran crecimiento, el período que vamos a estudiar es el de mayor duración en la ovogénesis: en todos los cortes del ovario predominan los óvulos en diversas fases de este período. De aquí que sea sorprendente en sumo grado que BUCHNER afirme que es absolutamente claro que en la ovogénesis no se produce ningún desdoblamiento longitudinal de las asas paquiténicas (1910, pág. 290) (1).

Veamos qué aspectos van tomando el núcleo y el óvulo entero durante estos estados postpaquiténicos.

Los dos filamentos constituyen el asa del paquinema y acaban por separarse completamente uno de otro, corriéndose hasta los extremos del asa la «hendidura» que separaba las porciones medias de la misma. De este modo se originan los núcleos estrepsiténicos o el *estrepsinema*. Pero, como consecuencia de la relación íntima que se estableció entre los dos filamentos durante el paquinema, y sobre todo durante la sinapsis, conservan, una vez separados, ciertas relaciones entre sí, al menos al principio, que facilitan el reconocimiento de las dos porciones conjugadas. Efectivamente, en todos los núcleos estrepsiténicos puede siempre reconocerse con claridad cierta relación de dependencia entre cada par de filamentos cromatínicos (figs. 47 a 55). Algunas figuras, sobre todo, no dejan lugar a la menor duda.

La cavidad nuclear aumenta rápidamente de capacidad y los filamentos se extienden y dispersan por la misma de mil dife-

---

(1) «... an diesem Objekt... nicht nur dass Bukett sich auflöst, ohne etwas von einem Längspalt zu sehen ist, sondern auch von den folgenden Stadien das gleiche gilt.»

rentes maneras, siguiendo direcciones variadísimas, que no están en relación ninguna con la polaridad, tan manifiesta en el paquinema. Pero en medio de esa expansión y crecimiento conservan los filamentos ciertos indicios de su común origen de una misma asa paquiténica. Lo más frecuente son mutuos entrelazamientos que hacen que los núcleos estrepsiténicos primitivos del ovocito tengan gran parecido con sus similares del espermatocito. Compárense al efecto las figuras 45 y 46, que representan dos aspectos clásicos del estrepsinema en la espermatogénesis, con los núcleos, figuras 48, 52 y 54, de la ovogénesis, y se verá que, si se reducen estas últimas figuras al tamaño de las del espermatocito, el parecido es muy notable.



Figura 45.
Estrepsinema en el espermatocito. ×2.250.

Los filamentos tienen en un principio los contornos bien definidos (fig. 48). Se parecen en todo, menos en la polarización, a los que hemos visto en el zigonema (fig. 35); pero no pueden confundirse con éstos, porque, además de la falta de polarización y paralelismo, tan manifiestos en el zigonema, los núcleos que describimos tienen una cavidad nuclear muy grande en comparación con aquéllos; lo cual es buen medio para reconocer el período por el que atraviesa el ovocito en aquel aspecto de su desarrollo. El diámetro mayor del núcleo del zigonema (figura 35) es de 9'8 μ; en tanto que el del estrepsinema incipiente (figura 48) mide 13 μ y es casi esférico.

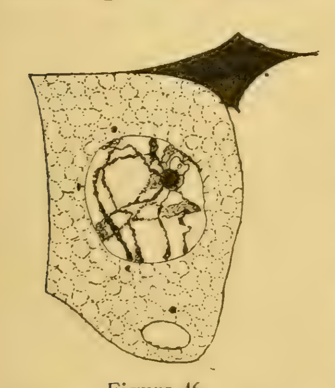


Figura 46.
Estrepsinema en el espermatocito. ×2.250.

Los filamentos que primeramente, como dijimos, son de con-

tornos lisos, comienzan a presentar señales de lo que podríamos llamar depuración cromatínica, que ha de dar origen a las variadísimas e intrincadas figuras, que tanto admiran cuantos se dedican al estudio de la ovogénesis. Empiezan, primero, por presentar contornos irregulares (fig. 55, *b*), como si el filamento

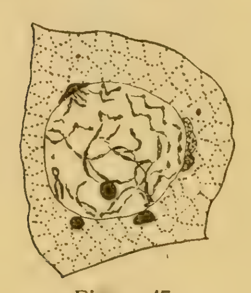


Figura 47.
Principio del estrepsinema en el ovocito. ×2.250.



Figura 48.
Forma normal del estrepsinema incipiente en el ovocito. Asas con los extremos independientes. Principio del crecimiento citario. ×2.250.

entrase en un período de desintegración; aumentan de longitud y grosor y, como consecuencia de ello, toman aspecto esponjoso (figuras 49 y 50); recorren toda la cavidad nuclear sin dejar por eso de presentar frecuentes entrelazamientos. Más adelante, la substancia cromatínica, que parece que se desintegra, se apelotona y reune en gránulos sobre el eje del filamento, tomando éste entonces el aspecto arrosariado (fig. 51). Las figuras son bien claras y demostrativas: estamos en pleno estrepsinema.



Figura 49.
Estrepsinema. ×2.250.

Mas desde este momento va a verificarse en los cromosomas del ovocito un curioso fenómeno, que ha sido interpretado de diferentes maneras por los diversos autores. El hecho es que los cromosomas pasan por un período característico, durante el cual crecen primero enormemente, rodeándose de una nebulosidad, que los emborrona casi por com-

pleto (figs. 55, *d*, y 56); vuelven después a presentarse profundamente alterados en su morfología (figs. 57, 58, 59 y 60); y, pasando por el período, que Farmer y Moore llamaron de segunda contracción, y que constituye lo que nosotros llamamos *diacinesis* (fig. 61), dan finalmente origen a los *gemini* (fig. 71) definitivos.

Describiremos primeramente cómo tiene lugar el fenómeno, según nuestras observaciones.

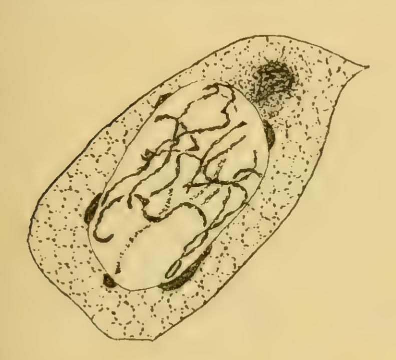


Figura 50.
Estrepsinema y formación mitocondrial. ×2.250.



Figura 51.
Estrepsinema. Célula dependiente todavía de la pared del espermiovi-ducto. Filamentos arrosariados. ×2.250.

Los filamentos procedentes del desdoblamiento longitudinal del asa del paquinema, parten a veces de un lado del núcleo (figura 53), que bien pudiera corresponder al polo hacia el cual estaban orientadas las asas precedentes. No es esto, sin embargo, lo normal. De ordinario, los filamentos no siguen orientación determinada; antes al contrario, no sólo están distribuídos por toda la cavidad nuclear, sino que presentan frecuentes inflexiones en su trayecto (figs. 52 y 53), que recuerdan las formas de las asas que les dieron origen.

Los filamentos de aspecto arrosariado (fig. 51) difunden su substancia por el carioplasma bajo el aspecto de pequeñísimos hilillos que se desprenden, sobre todo, de los gránulos; por lo

cual toman un aspecto erizado (figs. 52, 53 y 54), que ya fué observado y descrito por STEVENS (1904).

El protoplasma de estas células no ha sufrido aún modificación notable: se conserva uniforme y poco coloreable.

Mas a medida que se hace más manifiesto ese erizamiento tan característico y sorprendente, aparecen sobre los finísimos hilillos una infinidad de gránulos de tamaño muy reducido, que los recorren a lo largo, como si se deslizaran sobre ellos, emborronan las figuras (fig. 55, *c*), y acaban por envolverlo todo en una



Figura 52.
Estrepsinema. Principio del erizamiento de los filamentos. ×2.250.



Figura 53.
Estrepsinema. ×2.250.

especie de niebla (figs. 55, *d*, y 56) espesa, perdiéndose por completo los contornos de las figuras. Las figuras son sumamente variadas y características.

Si se examinaran aislados algunos de estos núcleos, fácilmente se caería en el error de que los filamentos cromatínicos habían desaparecido por completo, disueltos en el magma que se forma. Pero, si se sigue el desarrollo de los mismos, se llega al convencimiento de que esta transformación que sufren no los destruye por completo, sino que, en cierto modo, les hace sufrir primero un crecimiento desmesurado, y más tarde una depuración, que los reduce grandemente en su tamaño, deján-

dolos reducidos casi a las mismas dimensiones que tienen los gemini espermatocitarios.

Los cordones cromatínicos crecen en longitud y grosor; y para esto es preciso que se nutran considerablemente y estén bien provistos de substancias nutritivas. Al efecto, estos ovocitos se encuentran ya en la zona limítrofe con la cavidad celómica, por la cual pasa el intestino, como hicimos notar en otra parte (figs. 1 y 2), y, por lo tanto, están en las mejores condiciones, para recibir abundante riego nutritivo. Además, aunque

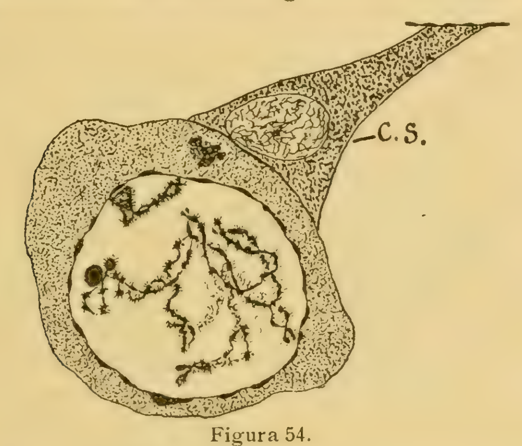


Figura 54.

Estrepsinema.—*c. s.*, célula suspensora dependiente de la pared del espermi-ovi-ducto. × 2.250.

apartados ya de la región germinativa del ovario, están dependientes de sus paredes por medio de las células suspensoras (figura 54, *c. s.*), que no sólo los mantienen relacionados con aquélla, sino que les sirven de vehículo para la nutrición. Al mismo tiempo, según vimos anteriormente, los ovocitos arrastran en su descenso algunas células accesorias del folículo ovárico (figura 20, *c. a.*), las cuales con su degeneración, además de contribuir a la formación de la gruesa membrana vitelínica, toman también parte en el enriquecimiento total del ovocito. Y como, por otra parte, la membrana vitelina aún no se ha engrosado en este estado, resulta que los fenómenos osmóticos han de ser

muy activos, y la nutrición del ovocito ha de ser muy fácil y abundante.

Esa extraordinaria actividad del ovocito se manifiesta por su rápido y extraordinario crecimiento, tan característico del mismo. Los cromosomas siguen la misma marcha que los demás elementos constitutivos de la célula, y por esto manifiestan su actividad, aumentando su longitud y grosor.

Pero en virtud de ese metabolismo vital, es preciso que se produzcan abundantes transformaciones químicas y morfológicas en esos mismos elementos; transformaciones que llevarán, en último término, a la constitución definitiva del cromosoma, que, como se ve, vive su vida, como un verdadero individuo viviente dentro del núcleo del ovocito.

Ese metabolismo no sólo lleva consigo adquisición e incorporación de substancia transformada, sino que supone también secreción y desprendimiento de las inútiles o perjudiciales.

Es decir, en resumen, que el cromosoma ha de llegar a su madurez, y para ello es preciso que incorpore, se nutra, crezca y excrete, y se depure para el fin a que está destinado. Todo esto queda más o menos denunciado por los cambios químicos y morfológicos que experimenta.

Así vemos que, al comenzar esta gran nutrición, aumentan las expansiones filamentosas, que erizan por todos lados a los cromosomas (fig. 54); los gránulos se hacen mayores y más coloreables; la longitud del filamento entero crece también. Más adelante (fig. 55, *c*) empiezan a aparecer los gránulos finísimos sobre esas expansiones, y se pierde de vista el contorno del cromosoma y de los filamentos. Un paso más allá y ya es preciso buscar núcleos en las mejores condiciones de observación, para que pueda apreciarse algún eje filamentoso (fig. 55, *d*), hasta que en último término *casi* se ha perdido por completo el individuo, sombreado y oculto por la abundante nebulosidad granular que le envuelve (fig. 56).

G. Levi (1905) advierte, con mucha razón, que es muy difícil

afirmar, si la forma desdoblada de los cromosomas, después de la sinapsis, se conserva en períodos sucesivos. «Ed ognuno [dice] comprende quanto riesca difficile il farlo, quando il volume della vesicola germinativa cresce, ed i cromosomi divengono poco distinti. Ma anche in una fase immediatamente succesiva e quella che ho descritto, quando la disgregazione dei cromosomi incomincia appena ad accennarsi, è quasi impossibile di definire la sorte dei filamenti cromatici sdiopiati» (pág. 719).



Figura 55.

Varias etapas del desarrollo y crecimiento del estrepsinema. *a*, estrepsinema incipiente, inmediatamente anterior al de la figura 48; *b*, estrepsinema más adelantado; *c*, erizamiento de los filamentos arrosariados del estrepsinema; *d*, formación de la nube de gránulos. × 2.250.

De todas maneras, reconociendo con Levi la dificultad, y aun la imposibilidad misma, de seguir los cromosomas desdoblados en todos los estados posteriores a la sinapsis, ya hemos visto que, posteriores a la primera contracción, existen núcleos, en los cuales se reconoce claramente la existencia de la dualidad cromosómica, tal como la representan las figuras 47 a 50. La confusión y dificultad comienzan, cuando se acentúa considerablemente la nebulosidad granular que da origen a la formación del *magma carioplásmico,* como lo llamaron Carnoy y Le-

BRUN. Pero, aun en este caso, es dable ver que esa nebulosidad no es del todo uniforme, sino que presenta acumulaciones predominantes en direcciones determinadas, y que, en lugar de formarse una nube uniformemente repartida, se forman *fajas* separadas entre sí por espacios más claros y menos provistos de gránulos. Al comenzar ese emborronamiento se distinguen todavía, en medio de las fajas, unas porciones más densas y teñidas, que, sin duda, corresponden a la porción axial de los filamentos (fig. 55, *d*). Efectivamente, se observa que esas porciones axiales siguen las mismas inflexiones que los filamentos estrepsiténicos anteriores, y que, por lo tanto, son restos de los mismos. Siguiendo adelante ese proceso depurativo, nos encontramos, al fin, con núcleos, en los cuales hay fajas, que presentan todavía algunas porciones axiales bastante manifiestas, y otras fajas, en las que se ha perdido el vestigio de esos ejes, quedando únicamente, como señal de su existencia, la porción más clara que separa, más o menos, una faja de otra. En la figura 56 existe, en la parte superior izquierda del núcleo, una porción de faja, en la que aún se distinguen, medio emborronados, los dos filamentos axiales, que presentan las mismas inflexiones y entrelazamientos estrepsiténicos, al paso que la faja inmediatamente inferior no permite reconocer su porción axial, aunque la deja adivinar por su posición y separación de las demás.

Los núcleos que siguen a esos, contienen exclusivamente un conjunto de fajas más o menos distintas o, mejor, nebulosidades alargadas y algo separadas unas de otras. Y aun a veces es muy difícil llegar a distinguir unas de otras esas diversas nebulosidades, a causa de la uniformidad general que toma el núcleo, sobre todo si su proyección óptica es desfavorable. Pues fácilmente se comprende que, aunque la cavidad nuclear ha aumentado de un modo extraordinario, el espacio resulta relativamente pequeño para dilatarse por él las *nueve fajas,* que deben existir, correspondientes a los nueve cromosomas del paquinema.

Y esta dificultad para percibirlas como algo aisladas, sube de punto si se tiene en cuenta que no llenan por completo la cavidad nuclear, sino que se acumulan aproximadamente en el centro del núcleo (fig. 55, *d*), o bien hacia un lado del mismo (fig. 56), quedando aquella masa unida a la membrana nuclear por medio de algunos tractus, filamentosos en un principio y llenos de finos gránulos más tarde.



Figura 56.
Formación de la nube de gránulos e independencia de las bandas granulosas. ×2.250.

Es muy significativo lo que se observa en el núcleo de la figura 55, *d*. En él se ve que a la izquierda del conjunto nubloso y en contacto íntimo con él, aparecen dos filamentos casi paralelos, arrosariados y con el mismo aspecto que los del estrepsinema de las figuras 47 y siguientes. Los dos extremos inferiores aparecen enteramente libres; los dos superiores quedan cubiertos por la nebulosidad del magma. Además de esta dualidad, se distinguen perfectamente otras cuatro, envuelta cada una en su correspondiente nube de gránulos finísimos que las emborronan. Pero, cosa muy notable, no sólo se aprecia que las porciones axiales de estas fajas se entrecruzan dos a dos, como en el estrepsinema, sino que la dualidad de la derecha presenta una porción nubosa y emborronada, y otra, en la parte superior, en el límite del magma, que por no tener granulaciones se destaca con la misma claridad que la dualidad de la izquierda, de que hablábamos antes. Esta porción distinta y la dualidad de la izquierda confirman plenamente lo que estamos diciendo, esto es, que las dualidades se conservan dentro de cada faja de gránulos, aunque ocultas por el fenómeno; y que, aun en aquellos casos en que no sea posible distinguir

ninguna porción axil bien manifiesta, es lícito suponer la existencia de los dos filamentos cromatínicos que constituyen la dualidad, como lo prueba también la presencia de fajas, en las que, en una porción, se pueden reconocer los restos axiales y, otras porciones, no son ya visibles (fig. 56).

Esto mismo opina H. D. KING (1908) hablando de la génesis de los huevos en el *Bufo lentiginosus*. «Es una lástima [dice] que la cromatina no pueda ser seguida durante el período de la formación del primer huso polar, ya que por esta causa se hace imposible identificar los cromosomas del primer huso polar con los cromosomas que se encuentran en el ovocito antes de la desintegración de la vesícula germinativa. Empero, si los cromosomas pueden mantener su individualidad en el núcleo en reposo de los oogonios y en el de los ovocitos jóvenes, cuando la cromatina se encuentra bajo la forma de gránulos, que están esparcidos irregularmente por una red de linina o están distribuídos sobre la membrana nuclear, yo no veo razón que obligue a considerar que los cromosomas pierden su individualidad cuando se fraccionan en gránulos al comenzar el período de maduración» (1).

Realmente es una lástima que no se puedan seguir en todos estos estados los filamentos cromatínicos; pero, aunque quedan ocultos por la niebla granulosa que los envuelve, creemos que hay razones y señales suficientes para poder admitir que persisten, aun a través de ese trabajo de metabolismo que experimentan.

---

(1) «It is unfortunate that the chromatin cannot be traced during the periode of the formation of the first polar spindle, since it thereby becomes impossible to identify the chromosomes of the first polar spindle with the chromosomes that are found in the oöcyte previous to the disintegration of the germinal vesicle. If, howewer, the chromosomes can maintain their individuality in the resting nuclei of the oögonia and of the young oöcytes, when the chromatin is in the form of minute granules, which are scattered irregulary along a linin meshwork or distributed on the nuclear membrane, I see no reason why they should be considered to lose that individuality, when they break up into granules at the beginning of the maturation periode» (pág. 413).

Sigámosles en su ulterior desarrollo y veremos confirmadas las suposiciones precedentes.

El núcleo pasa, como dejamos expuesto, por un período crítico de gran nutrición y crecimiento, durante el cual es tan abundante la nebulosidad que envuelve los filamentos, que la presencia de éstos se deja más bien adivinar, que percibir. Son marcados y numerosos los tractus o anastomosis que se establecen entre la nebulosidad y la membrana nuclear (fig. 56), siendo tanto más abundantes cuanto mayor es la proximidad de la masa nuclear a la periferia, como se observa en la citada figura, en la que se ve que, estando la masa aproximada a la izquierda, son siete las anastomosis que por ese lado la unen a la membrana, en tanto que del lado contrario no hay más que una bien marcada y tres indicadas sólo por pequeños filamentos.



Figura 57.
Aparición de los cordones cromosómicos y de los filamentos arrosariados irradiantes. × 1.000.

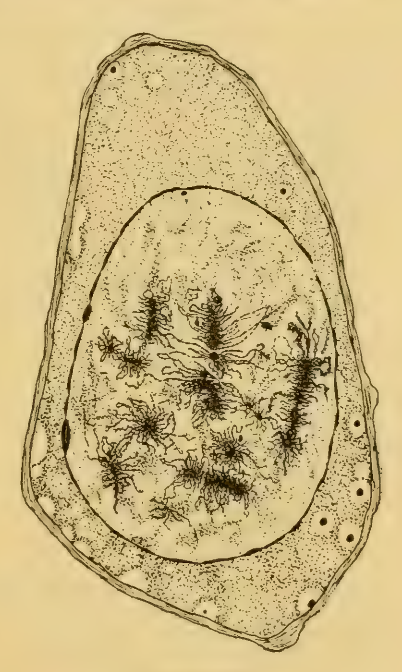


Figura 58.
Cordones cromosómicos erizados de innumerables filamentos arrosariados irradiantes. × 1.000.

Poco a poco va despejándose esa nebulosidad, y entonces se ofrece a nuestros ojos el resultado de la transformación, sufrida en el misterio de la niebla, que lo enmascaraba. Nos encontramos, en primer término, con gruesos y alargados cordones cromatínicos, de cuya periferia arrancan infinidad de finísimos hilos, a lo largo de los cuales se hallan depositados granos relativamente gruesos de substancia cromatínica (figs. 57, 58 y 59).

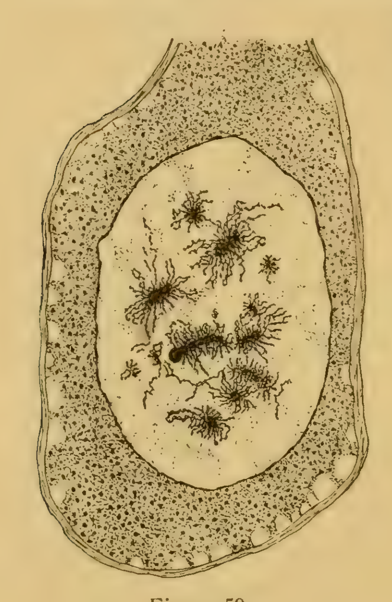


Figura 59.

Cordones cromosómicos erizados de innumerables filamentos irradiantes. Citoplasma lleno de gránulos vitelínicos repartidos uniformemente. ×750.

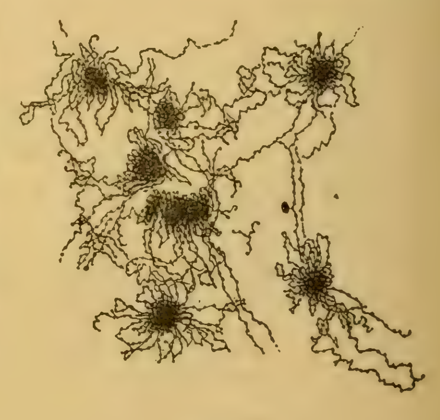


Figura 60.

Estructura filamentosa de los cordones cromosómicos. ×2.250.

Las direcciones y variadísimos aspectos que presentan esas expansiones filamentosas son infinitas y producen un espectáculo, que es más para verlo y apreciarlo al microscopio con el rápido girar del tornillo micrométrico, que para traducirlo en dibujo alguno. Cualquier dibujo que se intente para reproducirlo, nos dará, como dice Carnoy, «une idée bien imparfaite, grossière même; car il est impossible de rendre par le dessin ces admirables figures»; figuras que, como el mismo añade, no se cansaría uno nunca de contemplar. Y téngase en cuenta que Carnoy,

además de expertísimo observador, era excelente dibujante; sus delicadísimas figuras resisten un análisis con la lupa en opinión de Schwalbe. Sobre todo, los aspectos del núcleo en el estado de la figura 58 son verdaderamente sorprendentes y maravillosos. A cada movimiento del tornillo micrométrico se presentan nuevos aspectos y nuevos y finísimos filamentos, que por todas partes se desprenden de los cordones cromatínicos y se entrelazan y se cruzan unos con otros, dando origen a figuras enmarañadísimas imposibles de reproducir. Si el cordón está cortado de través, el aspecto es aracnoideo y puede compararse al que ofrecen las células óseas o nerviosas más abundantes en ramificaciones. Si el cordón se presenta a lo largo, parece un miriápodo de incalculable número de apéndices. «Ces figures [prosigue Carnoy] arrivent a leur apogée, pendant la seconde période, pour décliner ensuite graduellement, jusqu'aux cinèses polaires».

IV. — Segunda contracción y diacinesis.

Veamos cómo tiene lugar esa declinación de los cordones cromosómicos. Dejemos para más adelante la exposición de las observaciones que hemos hecho, relativas al citoplasma y demás elementos del ovocito, y concretémonos por ahora a seguir los cordones en sus metamorfosis.

Han crecido de una manera considerable. El metabolismo vital se manifiesta en ellos activísimo y se hace evidente no sólo por el aumento en tamaño y facultad de teñirse, sino también por la emisión o pérdida de substancia. De su superficie se desprenden numerosos hilillos, que unas veces son rectilíneos y están sueltos en su extremo, y otras forman asas, anillos o lazadas de muy diversas formas. Sobre esos hilillos se depositan innumerables gránulos cromatínicos, que les comunican ese aspecto arrosariado tan característico. En un principio estos gránulos son relativamente gruesos y el eje del cordón es realmente sólido y continuo.

Mas a medida que adelanta la transformación, los filamentos irradiantes son mucho más finos y delicados, lo mismo que los gránulos en ellos incrustados. El eje del cordón cromatínico pierde su continuidad y solidez, y se presenta como descompuesto y formado por un espeso entrecruzamiento de filamentos irradiantes (figs. 58 y 59), que, sumamente próximos y casi paralelos, forman el grueso del cordón. Podríamos compararlo a una tupida madeja de hilos de la cual se desprendieran algunas espiras o vueltas más grandes y laxas. El cuerpo apelotonado de filamentos paralelos de la madeja representaría el cuerpo del cordón cromatínico, y las espiras sueltas, los filamentos que irradian del mismo. Esta estructura puede perfectamente apreciarse, examinando con más detalle y a mayor aumento los núcleos de las figuras 58 y 59. Se llega al convencimiento de que, lo que a primera vista parece cordón uniforme, se resuelve en un enjambre apretado de filamentos paralelos (fig. 60) y provistos de innumerables gránulos. Esta estructura filamentosa se presenta de esta forma, tanto si se examina un cordón visto de lado, en la dirección de su longitud, como si se observan cortes transversales del mismo. Esa es, pues, su estructura íntima.

Algunas de estas expansiones filamentosas son sumamente largas y sobresalen del conjunto, originando los filamentos irradiantes, que tienen la misma forma arrosariada, que los que se encuentran en el mismo cuerpo de la madeja. Parece también que, así como los filamentos irradiantes de un mismo cordón, se reunen y anastomosan entre sí y originan las asas o bucles, que abundan por todos lados, así también se anastomosan los filamentos correspondientes a diversos cordones cromatínicos próximos. Esto último, sin embargo, no podemos certificarlo con exactitud, pues la extremada delicadeza del filamento está ya en los límites de la resolución del microscopio.

Todas estas formaciones no quedan aisladas de la membrana nuclear. Del conjunto nebuloso, que forman los cordones cromatínicos y sus filamentos irradiantes, se desprenden corrientes

de gránulos que llegan hasta la membrana nuclear y se adhieren a ella en forma ensanchada, como pata de oca (fig. 57). Cuando más adelante se despeja el conjunto y se aclara el campo, esas corrientes son también muchos más tenues y menos numerosas (fig.58), su colorabilidad disminuye rápidamente y dan, por fin, origen a la trama general reticulada del núcleo.

Toda estas figuras tienen sorprendente parecido con las observadas en la vesícula germinativa de otros muchos animales, tanto invertebrados como vertebrados. Sobre todo, es maravillosa su semejanza con las de los batracios, estudiadas por CARNOY y LEBRUN y por G. LEVI, y con las del *Bufo lentiginosus,* en particular, estudiado por H. D. KING.

Algunos núcleos contienen gránulos bastante gruesos, que podríamos llamar nucléolos, adheridos al extremo del cordón cromatínico. Esto se ve claramente en las figuras 58 y 59. De ordinario, estos nucléolos no presentan expansiones filamentosas sino que su contorno es liso y bien determinado. Otros también presentan, al igual que el resto del cordón cromosómico, las expansiones filamentosas, tan características de este estado.

También en el espermatocito, durante el período de su máximo crecimiento, pudimos observar el nucléolo adherido a los filamentos del asa estrepsiténica (figs. 45 y 46).

Al terminar este período de *gran crecimiento* de la vesícula germinativa e iniciarse la *diacinesis*, desaparecen estos nucléolos. Lo mismo sucede en el espermatocito.

Diacinesis. — El aspecto de descomposición que presentan los cordones cromosómicos, que estamos estudiando, haría creer que tienden a resolverse y desparecer en el jugo cariopiásmico. Así lo opinaron CARNOY y LEBRUN en la vesícula germinativa de los batracios, aunque viendo en el núcleo un proceso distinto del que queda expuesto. Sin embargo, podemos asegurar que los cromosomas no desaparecen nunca: no se encuentra ningún núcleo que no presente algún aspecto, más o menos avanzado en su desarrollo, de los cordones cromosómi-

cos. No hay en todo el ovario de la *Sagitta* ni un solo núcleo desprovisto de cromosomas, o en el que los cromosomas se hayan resuelto *enteramente* en gránulos que se difundan por el carioplasma. Pues, aunque hemos visto que la estructura íntima de los cordones, cuando han llegado al apogeo de su crecimiento y depuración, es claramente filamentosa, estos filamentos, que constituyen el eje del cordón, no acaban por separarse y perderse, como a primera vista parece que ha de suceder, sino que ahora tiene lugar un fenómeno de concentración, contrario al precedente, o mejor dicho, complementario del mismo. Va a venir ahora la *segunda contracción nuclear* o *diacinesis* de HÄCKER.

No creemos fuera de lugar, el recordar aquí lo que sobre este estado dejamos consignado en otra parte (1914, pág. 34). «El estado de gran expansión, suele ser de duración prolongada en el ovocito y relativamente corto en el elemento masculino, animal o vegetal. Al fin, más tarde o más temprano, los filamentos estrepsiténicos repiten el fenómeno del acortamiento y aumento de grosor, dando origen a una segunda *sinapsis* o *segunda contracción cromática*. Al mismo tiempo que engruesan, disminuyen de volumen, y van como concentrando y depurando su cromatina, cuya colorabilidad llega pronto al máximum; pero los filamentos no se apelotonan, como en la primera sinapsis, sino que permanecen bien distintos por pares, y más o menos aislado un par de otro, sobre todo en el ovocito, en el que el enorme tamaño, que alcanza la célula, lo permite; y aun con mayor holgura, porque en este último período de la profase citaria empieza a desaparecer la membrana nuclear, y se mezcla el jugo del núcleo con el del citoplasma».

Este es el estado en que va a entrar la vesícula germinativa.

Efectivamente, lejos de acabar de separarse aquellos filamentos arrosariados, que forman el grueso del cordón, lo que sucede es que, una vez llevado a cabo el trabajo químico de nutrición y depuración del cromosoma, aquellos filamentos vuelven a

apretarse unos contra otros, y originan de nuevo bastoncitos sólidos y macizos, como los que se ven al comenzar aquel estado. No sólo se comprimen y espesan de nuevo, sino que, como ya hizo notar STEVENS, se reabsorben las mismas expansiones filamentosas que parecían desprenderse del cromosoma, y todo contribuye a reconstruirlo. Esto es lo que se observa en los cromosomas de la figura 61. El cuerpo del bastoncito es macizo: aun empleando los mejores objetivos y condensadores, no se re-



Figura 61.

Segunda contracción nuclear o diacinesis.—*g. v.*, gránulos vitelínicos; *g. f.*, gránulos finos; *m. v.*, membrana vitelina. ×750.

suelve en filamentos, como sucedía anteriormente. Las expansiones filamentosas irradiantes han disminuído considerablemente. Apenas se encuentra alguna en forma de asa, ni que pueda tomarse como unida a los filamentos de otro cromosoma: todo tiende a ser reabsorbido por el eje del cordón.

Pero, como es natural y evidente, esa nueva concentración y compresión de un elemento, cuya estructura era filamentosa y como fofa, lleva consigo una gran disminución de volumen y acortamiento en todas las dimensiones. Por encontrarse acumulada en menor espacio la misma cantidad de cromatina, y ésta

escogida y depurada, aumenta también la colorabilidad de los elementos. Es decir, que los cordones cromatínicos dejan ver otra vez claramente su individualidad, que antes había quedado enmascarada, primero con las nieblas de gránulos (figs. 55, 56 y 57), y después con las expansiones filamentosas irradiantes (figuras 57, 58, 59 y 60).

El núcleoplasma adquiere un aspecto característico. Toda la cavidad carioplásmica se halla recorrida por una red de malla irregular que la cruza en todos sentidos. Las mallas de esta red no son filamentosas. Están constituídas por corrientes de gránulos muy finos y de tamaño diferente: el fondo está formado por los gránulos casi imperceptibles, y metidos en ese fondo se ven otros gránulos algo mayores. Esta red se encuentra unida a la membrana nuclear por numerosos puntos de adherencia.

Durante casi todo este período encuéntrase con alguna frecuencia el nucléolo; pero no debemos considerar como tal las secciones transversales de los cordones cromosómicos (figuras 57 y 58), que con frecuencia se presentan en los cortes.

En el último período de esta fase, y antes de entrar francamente en la diacinesis, se encuentran adheridos a los cromosomas algunos gránulos de tamaño variable, ya que pueden llegar a tener el mismo (fig. 58) o mayor diámetro que el cordón cromosómico (fig. 59). Si representáramos el núcleo de la figura 59 con la misma ampliación que el de la figura 33, en que claramente aparece el nucléolo, tendríamos que dibujar el gránulo tres veces mayor que este nucléolo (1).

Más tarde, durante la diacinesis (fig. 61), desaparecen completamente estos nucléolos, o por lo menos no pueden distinguirse

(1) La figura 33 ha sido dibujada a 2.250 diámetros, mientras que la figura 59 lo está únicamente a 750.

de los gránulos vitelínicos, que invaden el campo nuclear, al desaparecer la membrana.

Con respecto a la membrana nuclear, no tenemos que añadir nada a lo expuesto en las páginas 22 y siguientes, en donde quedó explicado el proceso que sigue en su formación y crecimiento a expensas de los cariosomas, que se hallan adheridos a la misma.

No queda señal alguna visible del resto fusorial.

El protoplasma es el que, después de los cromosomas, experimenta mayores mudanzas durante este período de gran crecimiento. Primeramente se presenta homogéneo (figs. 47 a 55) o casi homogéneo, con algunos gránulos redondeados (fig. 53). A medida que avanza la emisión de expansiones filamentosas, propias del estrepsinema, el protoplasma adquiere rapidísimamente gran colorabilidad para con la hematoxilina, no distinguiéndose más que un espeso hacinamiento de substancia citoplásmica, granugienta. Después, una vez establecidas las corrientes intranucleares que unen el conjunto cromosómico a la membrana, se forman vacuolas, que predominan en la periferia del ovocito (figs. 10, 11, 58, y 59), de tal manera que, examinado un óvulo en vista polar, aparece como una criba; y en corte transversal puede apreciarse, según dejamos indicado, que esas burbujas o vacuolas no son debidas a retracciones de la membrana vitelina. Si bien predominan en la periferia del óvulo, no por eso faltan en el interior del citoplasma, aunque no son tan numerosas (figs. 55, 56 y 58).

En el interior de estas vacuolas existen en muchas ocasiones uno o dos gránulos de tamaño variable, que toman intensamente la hematoxilina.

Estos gránulos vitelínicos se forman y multiplican de una manera asombrosa en estados sucesivos (figs. 59 y siguientes), dando origen al deutoplasma globular o discoidal, formado principalmente por lecitina.

No deben confundirse con los «condriosomas» esféricos, pues,

según J. DUESBERG, los gránulos del vitelo son elementos bastante regulares, esféricos y de tamaño variable, al paso que los condriosomas son mucho más pequeños, y se acumulan principalmente en el polo vegetativo.

* * *

¿Cuál es el origen de estos gránulos del deutoplasma? Parece cierto que son debidos al metabolismo intenso, de que es asiento el ovocito en ese estado. A su nutrición contribuyen, sin duda, las células suspensoras y las accesorias, proporcionando abundantes materias. En cuanto a su formación, STEVENS indica que comienzan a aparecer, cuando el núcleo entra en el estado representado por nuestra figura 58, en cuyo caso, el protoplasma tiende a tomar aspecto reticular. Añade además que estos gránulos se acumulan a veces en las cercanías de la membrana nuclear, entre el núcleo y el conducto del micropilo. Otros autores son de parecer que los gránulos del vitelo derivan directamente de uno primero, que ya se encuentra en los oogonios primarios. Así lo opina KING en la ovogénesis del *Bufo lentiginosus,* en la que, ya al comienzo de la profase, describe un gránulo vitelínico en el protoplasma, llamándole cuerpo vitelínico *(viteline body).*

Cierto es que ya en el estado de la salida del reposo (fig. 29, *b),* en la sinapsis (fig 36), en el paquinema (fig. 39) y en el estrepsinema incipiente (figs. 53 y 55, *a*) se ven algunos granos gruesos, que pudieran ser considerados como cuerpos vitelínicos. Pero hemos de decir que no hemos podido sorprender en ellos el momento de la división, si bien hace sospechar su existencia la proximidad en que, a veces, se encuentran dos de ellos (figura 29, *b*). En cambio, cuando el núcleo se encuentra en el estrepsinema de gran crecimiento (figs. 54 y 55, *c*) se presentan además algunos gránulos contenidos en vacuolas o fuera ya de ellas, y cuya formación pudiera ser parecida a la de los plastidios de las células vegetales, formados por condensaciones del mismo

citoplasma. Estos gránulos son pequeñísimos en un principio, y, al parecer, se multiplican por división directa, pues es muy frecuente encontrarlos por pares dentro de una misma vacuola (figs. 55, *c*, y 62, A). A medida que avanza la madurez del óvulo, aumentan rapidísimamente en número, invadiendo todo el citoplasma de una manera casi uniforme. Junto a la membrana vitelina se forman algunos más gruesos, sobre todo en la proxi-

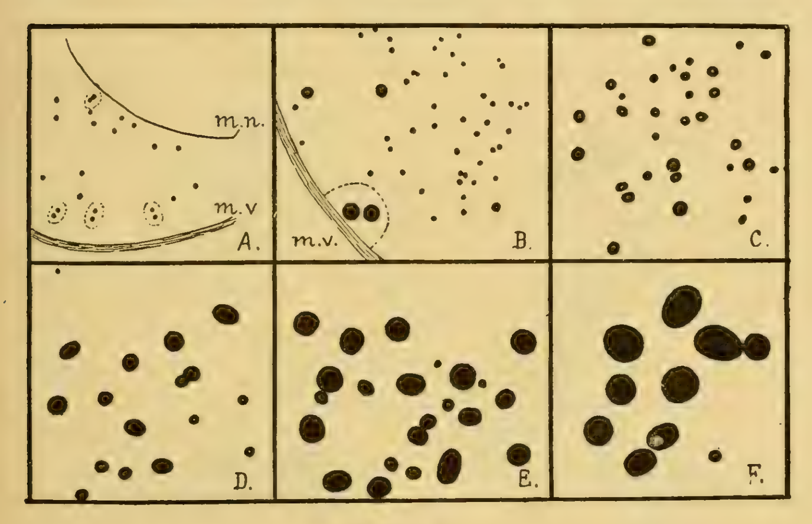


Figura 62.

Gránulos vitelínicos en diferentes estados de crecimiento, dibujados con el mismo aumento. — A, en el núcleo del estrepsinema incipiente; *m. n.*, membrana nuclear; *m. v.*, membrana vitelina; B, en el estrepsinema en estado de máximo erizamiento; *m. v.*, membrana vitelina; C, D, E, en el núcleo en fases diversas de la diacinesis; F, durante la formación del huso definitivo. × 4.000.

midad de las células suspensoras (fig. 57). Estos gránulos suelen estar contenidos en vacuolas hemisféricas, y parece que también se multiplican por división directa, pues se les encuentra frecuentemente por pares en el interior de una vacuola (fig. 62, B). Más adelante, cuando el ovocito aumenta considerablemente de volumen, y el protoplasma se aclara y se hace transparente (figs. 57 y 58), los gránulos acaban por encontrarse uniformemente repartidos por toda la cavidad citoplásmica en número in-

calculable (fig. 59). Finalmente, el fondo de la cavidad está formado por una red granugienta, por entre cuyas mallas se reparten los gránulos vitelínicos, que continúan aumentando de volumen, hasta llegar a adquirir un tamaño considerable (fig. 62, F).

Para que el lector pueda apreciar el aumento de tamaño, que experimentan, representamos algunos de estos gránulos, tomados de distintos óvulos en diferentes grados de desarrollo, y dibujados a la misma escala (fig. 62).

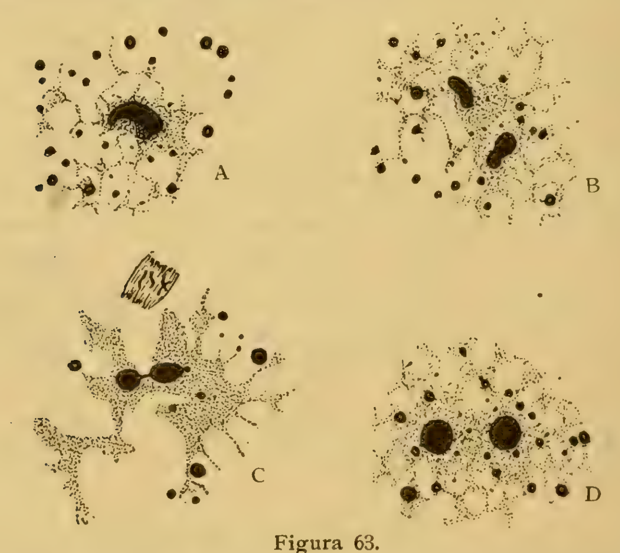


Figura 63.

Formas diversas de granos vitelínicos voluminosos. — C, en su parte superior, muestra una metafase en huso múltiple. × 1.000.

Los gránulos de un mismo ovocito no son todos del mismo volumen. La figura anterior y la figura 73 son buena prueba de esto.

Unos toman con la hematoxilina una coloración azul intensa, casi negra: otros se tiñen de un color más claro, tirando a rojo purpúreo. Se encuentran indiferentemente mezclados unos con otros.

Cuando se disuelve la membrana nuclear, parece como si se estableciera una corriente predominante de los mismos hacia la

región carioplásmica, y abundan algo más en el lugar mismo del núcleo (fig. 1). Pero cuando el ovocito llega a su completa madurez, no se acumulan con preferencia en ninguna región del mismo, sino que están uniformemente repartidos por todo él.

En este mismo último período del crecimiento ovocitario, se encuentran algunos granos de tamaño mucho mayor que los restantes, y que en un principio nos hicieron creer que era la cabeza del espermatozoo que había penetrado ya en el huevo (1). Son de diferente volumen y forma, predominando las formas globulares. Presentamos varios ejemplos de los mismos (figura 63). Su volumen extraordinario puede apreciarse comparándolos con los granos pequeños que les rodean, que son los mismos representados en la figura 62, letras E y F.

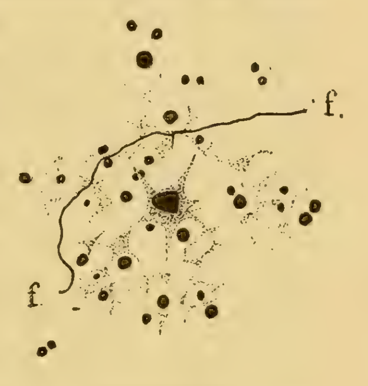


Figura 64.

Grano vitelínico voluminoso en un ovocito, en cuyo interior se observa un largo filamento *f*. ×1.000.

Para explicar la presencia de estos gruesos granos, podríamos aceptar la opinión de H. LEBRUN, según el cual los gruesos *nucléolos* de los ovocitos maduros resultan de la fusión de los gránulos vitelínicos.

Estos granos extraordinarios pueden también multiplicarse

(1) Nos inclinaba más a esta idea la presencia, dentro del huevo, de un filamento sumamente largo (fig. 64); tanto que los trozos del filamento, seccionados por el microtomo, se encuentran en cinco o seis cortes de la preparación. La forma de ese gránulo es muy característica, pues aparece truncada por un extremo del eje y redondeada por el otro. Además, a su alrededor, se condensa el protoplasma de una manera particular, produciendo una figura estrellada, pero sin que sea posible distinguir ningún áster ni centrosoma. El gránulo ocupa el centro de la figura estrellada. No nos atrevemos a tomar ese grano, como la cabeza del espermatozoo, a pesar del largo filamento que presenta la célula en su interior y que pudiera representar la cola del mismo, porque en otras células encontramos granos de ese tamaño, a cuyo alrededor también se acumula el protoplasma de un modo parecido, y que presentan los mismos caracteres que el anteriormente mencionado, salvo la presencia del filamento.

por división directa. La figura 63 C ofrece un claro ejemplo, que no puede ser tomado, a nuestro parecer, como un caso de fusión; pues el estiramiento que se produce es claro indicio de la tracción que se verifica, mientras que si se tratara de una fusión de los granos, estarían en contacto las dos superficies de los mismos sin ningún estiramiento.

Además de todos estos cuerpos vitelínicos, existen en el protoplasma otras formaciones, que se manifiestan de un modo especial, al comenzar la diacinesis. Consisten en una acumulación de finísimos gránulos en inmediato contacto con la membrana nuclear (fig. 61), y que, al principio, se colocan preferentemente en el hemisferio del núcleo que mira al conducto micropilar y al punto de suspensión del óvulo. Se distinguen dos clases de estos gránulos: unos sumamente finos, que forman el fondo, y otros algo más gruesos, pero siempre mucho menores que los cuerpos vitelínicos. Más adelante estos gránulos se extienden de un modo uniforme por toda la membrana nuclear y la envuelven completamente (figs. 67 y 68), encontrándose los granitos lo mismo al interior que al exterior de la membrana. En otros núcleos más avanzados en el proceso de maduración, desaparecen los gránulos externos, quedando únicamente los interiores (fig. 71), aunque muy reducidos (1); hasta que por fin, al desaparecer por completo la membrana nuclear, sólo quedan algunos granitos (figs. 69 y 72) de diferentes tamaños, pero siempre muy pequeños, que indican el perímetro que ocupaba la membrana.

Ya indicamos en otra parte (pág. 59 y siguientes) que esos pequeños gránulos, sobre todo los más visibles, proceden en parte también de la red nuclear, que envuelve la vesícula germinativa. Pero los más finos y delicados están sin duda relacionados con la depuración de los cordones cromosómicos, que

(1) Téngase en cuenta el diferente aumento de las figuras. Las figuras 67 y 68 están dibujadas a 750 diámetros; la figura 71, a 2.250.

hemos descrito, y con los fenómenos osmóticos que deben acompañarla. Creemos esta explicación la más apropiada para los gránulos que se observan en el interior de la membrana.

Interviene también en la existencia de todos esos gránulos, la formación mitocondrial, que hemos descrito en diversos ovocitos del principio de la profase (figs. 31, 40, 41 y 50).

El tamaño de los ovocitos aumenta rapidísimamente en este período, sobre todo a partir de la figura 54.

Figura	48	diám. núc.	13 × 10 μ;	diám. cél.	11 × 22 μ.
—	50	—	13 × 6'7 μ;	—	21 × 11 μ.
—	54	—	14'6 × 13 μ;	—	21 × 17 μ.
—	55, *d*	—	24 × 20 μ;	—	31 × 28 μ.
—	56	—	26 × 20 μ;	—	38 × 24 μ.
—	57	—	60 × 54 μ;	—	104 × 64 μ.
—	58	—	73 × 53 μ;	—	126 × 64 μ.
—	59	—	93 × 60 μ;	—	168 × 85 μ.
—	61	—	101 × 74 μ;	—	225 × 195 μ.

De modo que desde el paquinema (fig. 39), el núcleo ha aumentado más de diez veces su diámetro y el ovocito cerca de veinte veces.

Es el período de mayor duración en la ovogénesis. Sus células son repelidas hacia la cavidad celómica, y se engruesa su membrana, según queda explicado (pág. 19 y siguientes). Al mismo tiempo tiene lugar la formación del aparato micropilar (pág. 27 y siguientes).

* * *

¿Cuál es el trabajo que se ha llevado a cabo en los filamentos cromosómicos, venidos del estrepsinema inicial (figs. 47 a 55), durante este largo período del crecimiento? Diferentes han sido las opiniones que se han dado del fenómeno, las cuales pueden quedar reducidas a dos principales, a saber: las que sostienen que se trata de una verdadera disolución de los cromosomas, y las que defienden que se trata de una depuración de los mismos.

Es evidente que estas dos opiniones están en íntima relación con las relativas a la individualidad de los cromosomas y a su persistencia al través de las metamorfosis celulares. CARNOY y LEBRUN, en sus investigaciones sobre la vesícula germinativa de los batracios (1908), suponen que los cordones cromatínicos se resuelven en un magma carioplásmico. «Los innumerables gránulos del cordón cromosómico no tardan en desprenderse y quedar repartidos en el carioplasma circundante: cada asa es reemplazada por una banda granulosa bastante ancha, de contornos siempre irregulares. El lector ha podido comprender que tiene a la vista una resolución en *magma*» (1). La substancia cromatínica se resuelve en gránulos que corren a lo largo de los filamentos, que erizan los cordones, y acaban por difundirse y desaparecer en el núcleoplasma. Una vez disueltos los gránulos cromatínicos, su substancia atraviesa por osmosis la membrana nuclear, mezclándose así con la substancia del citoplasma. Madurada y transformada convenientemente, vuelve a penetrar en el núcleo a través de la membrana, y de nuevo toma la forma de granos y pequeñas esferillas, a expensas de las cuales se rehace enteramente el cromosoma «con exclusión de todo filamento. Aquí no cabe lugar a la menor duda: los cromosomas deben únicamente su origen a estos elementos minúsculos. Este hecho es de la mayor importancia, pues bastaría por sí solo, si aún fuera necesario, para condenar la teoría de la permanencia de los cromosomas primitivos del ovocito» (2). Y en otra parte añaden: «Nuestras observaciones sobre los batracios contradicen

---

(1) «Les innombrables granules du boyau ne tardent pas a s'échapper et a se répandre dans le caryoplasma environant; chaque anse est bientôt remplacée par une bande granuleuse assez large, toujours irrégulière de contours. Le lecteur a compris qu'il a sous les yeux une résolution en *magma*».

(2) «... a l'exclusion de tout filament. Ici cela ne peut être douteux: les chromosomes doivent uniquement leur origine à ces éléments minuscules. Ce fait est d'une haute importance, car il suffirait a lui seul, s'il etait encore besoin, pour condamner la théorie de la permanence des chromosomes primitifs de l'ovocyte» (1908, pág. 326).

muchas teorías, que tienen relación con la cuestión de la herencia: la permanencia e individualidad de los cromosomas (Boveri, Wilson, etc.), la bivalencia de los cromosomas, etc.» (1).

Concede Carnoy principalísima importancia a los nucléolos, de los cuales admite cuatro tipos de resolución: 1.°, resolución serpentina (2); 2.°, resolución en cordones *(boudins);* 3.°, resolución filamentosa estrellada, y 4.°, resolución en plumeros. El primero corresponde, según nuestro modo de ver, a la presencia en el núcleo de los filamentos del estrepsinema incipiente (figs. 47 a 55); el segundo, a los cromosomas en el estado de la diacinesis (fig. 61); el tercero corresponde a los cromosomas erizados de filamentos (figs. 58, 59 y 60), pero que han sido cortados transversalmente, y se proyectan a modo de nucléolos de aspecto aracnoideo; y el cuarto, a los mismos cromosomas anteriores, vistos en proyección lateral.

Otros autores opinan que, al comenzar el período de gran crecimiento de la vesícula germinativa, tiene lugar una diferenciación de la cromatina fundamental en dos variantes suyas: la basicromatina y la oxicromatina. La primera es muy coloreable, forma el eje de los filamentos, bandas y cordones cromatínicos, presenta todas las reacciones fundamentales de la basicromatina, y, en opinión de G. Levi, las de la cromatina ordinaria. La oxicromatina forma la región periférica de los filamentos, bandas y cordones, y se presenta disociada y granulosa.

«En este estado [dice Levi] existen en la vesícula germinativa dos clases de cromatina: una muy coloreable, que tiene la propiedad de la basicromatina o cromatina ordinaria, y está limitada a la parte axil del cromosoma; la otra menos coloreable, que podremos llamar con Heidenhain oxicromatina, de aparien-

(1) «Nos observations sur les batraciens contredisent plusieures théories ayant des rapports avec la question de l'hérédité: la permanence et l'individualité des chromosomes (Boveri, Wilson, etc.), la bivalence des chromosomes, etc.» (Ibid., pág. 387).

(2) O en forma de serpiente.

cia granulosa, y situada en la periferia del cromosoma» (1). Una cosa parecida admite STEVENS: «los cromosomas han comenzado a emitir finas ramas de material menos coloreable que el cuerpo de los cromosomas» (2). Esta distinción entre las dos clases de cromatina la admite también H. D. KING. «Me inclino a creer [dice] que la sinicesis en el huevo del *Bufo,* es un proceso mediante el cual la cromatina que lleva los caracteres hereditarios y que debe ser empleada para la formación de los cromosomas del huso de maduración, es separada de la cromatina, que tiene otros fines en la célula. Esto parecería confirmar la opinión sostenida por GARDINER de que "hay dos especies de material cromatínico: una insoluble, que lleva la herencia, y que se ha de transmitir a las células-hijas, y otra que constituye materia nutritiva para el citoplasma,,» (3).

Por nuestra parte nos parece indubitable que, efecto del activo metabolismo que se desarrolla en todos los elementos del ovocito, durante el período de gran crecimiento, no puede escapar a esa actividad vital la porción más importante de la vesícula germinativa, que son los cromosomas. Y aun casi podríamos afirmar que su actividad regula la de los restantes elementos celulares. Por consiguiente, y no perdiendo de vista el fin principal a que están destinados los cromosomas citarios, que es

(1) «A questo stadio essistono nella vassicola germinativa due specie di cromatina: l'una molto tingibile, la quale ha la proprietá della basicromatina o cromatina ordinaria, ed è limitata alla parte assile del cromosomo; l'altra meno tingibile, che potremmo chiamare con Heindenhain oxycromatina, di apparenza granulosa e situata alla periferia del cromosomo» (página 726).

(2) «The chromosomes have begun to send out fine branches of less stainable material than the body of the chromosomes» (pág. 230).

(3) «I am inclined to believe that synicesis in the egg of Bufo is a process by which the chromatin which bears the hereditary qualities and is to be used for the chromosomes of the maturation spindle, is separated from the chromatin which has other uses in the cell. This would seem to bear out GARDINER's contention that "there are two kinds of chromatin stuff, the one insoluble and bearing the heredity, which is to be transmitted to the daughter-cells, the other food for the cytoplasm,,» (pág. 415).

dar origen a las células hijas y perpetuar la especie por reproducción, no es extraño que en los mismos tenga lugar una actividad particularísima que los prepare para ese destino. De aquí que haya de establecerse entre el núcleo y el citoplasma un intercambio muy notable de substancias de asimilación y desasimilación: intercambio que afectará principalmente a los cromosomas. Como señales inequívocas de esa actividad e intercambio están la granulación nebulosa, que se forma alrededor de las asas estrepsiténicas, cuando entran en ese período de actividad (figs. 55 y 56), y las corrientes plásmicas que se establecen entre los cromosomas y el citoplasma, denunciadas por los tractus y filamentos que unen el conjunto cromosómico con la membrana nuclear, siendo estas comunicaciones más numerosas, cuanto mayor es la proximidad de la masa de los cromosomas a la membrana y, por lo tanto, cuanto mayor es la facilidad para el intercambio que se establece. Que esa nebulosidad es efecto de la actividad propia de las asas estrepsiténicas, lo prueba el hecho de que en un principio la nebulosidad no es uniforme, sino que, como ya advertimos anteriormente, predomina alrededor de las mismas, y ès menos pronunciada en los espacios intermediarios; de manera que cada asa queda formando una banda, que CARNOY llama *boudin* y *boyau*.

Más adelante la depuración penetra hasta lo más íntimo del elemento cromosómico, y por eso el cromosoma se presenta filamentoso y en forma de madeja apretada, de la cual se desprenden una multitud de finísimos filamentos, que marcan las corrientes de intercambio establecidas (figs. 57, 58, 59 y 60). Una vez verificada esa depuración, el elemento cromatínico adquiere paulatinamente su forma definitiva, disminuyendo enormemente su volumen, a causa de perder la estructura filamentosa que presentaba durante el final del período de gran crecimiento. Así es cómo se originan los cromosomas definitivos diacinéticos (fig. 65), cuyo tamaño es considerablemente menor que el de las bandas, *boudins* o *boyaux*, que les dieron origen.

Esta es la interpretación que damos al complicado conjunto de cambios que tienen lugar durante el gran crecimiento del ovocito en la *Sagitta bipunctata*.

Stevens opina que la cromatina se desprende del eje del cromosoma en forma de gránulos, sin atreverse a decidir si la cromatina se disuelve en el jugo nuclear y sale del núcleo por ósmosis, o bien si los gránulos atraviesan mecánicamente la membrana, que en este estado es finísima. Teniendo en cuenta, sin embargo, que dentro del núcleo sólo se ven gránulos en conexión con los cromosomas, y que fuera de él se encuentran grupos de los mismos cerca de la membrana, en lugares en que ésta es sumamente fina, se inclina a creer que la substancia sale disuelta a través de la membrana y se rehace después en el citoplasma.

Al parecer, se refiere a los granos gruesos y nucléolos que se ven adheridos a los cordones cromosómicos, durante el período de gran crecimiento. Por lo menos las figuras con que Stevens acompaña su trabajo, hechas a muy escaso aumento, así parecen indicarlo. Las figuras de los óvulos enteros maduros son menores que en nuestra figura 1, que está hecha a unos 300 diámetros. A ese pequeño aumento no pueden verse las granulaciones finas, a que nosotros nos referimos como desprendidas de los cromosomas. Ya vimos también (pág. 22), que Stevens opina, que la membrana nuclear se desgarra en las cercanías del huso acromático, y que por la abertura producida sale el nucleoplasma, mezclándose con el citoplasma. En su figura 25 (1904) el nucleoplasma, al salir, ya se encuentra provisto de gránulos gruesos vitelínicos. No hemos observado esto; antes al contrario, hemos visto que los gránulos vitelínicos, invaden el campo nuclear, cuando la membrana ya ha desaparecido, y vienen todos del citoplasma. Los que encontramos dentro del núcleo, antes de que se haya disuelto su membrana (como en el núcleo de la figura 65, en el que hay dos), opinamos que han sido arrastrados por la navaja al hacer el corte.

En realidad, lo que se observa en las preparaciones es que los delgados filamentos irradiantes se encuentran sembrados de granitos de cromatina, que les dan aspecto arrosariado, aunque a veces esos gránulos no son perfectamente esféricos, sino ovalados. Fuera de esos filamentos hay también finísimos gránulos, que forman diversas corrientes en la cavidad nuclear (figuras 57, 58, 59 y 61); y esos gránulos son mucho más pequeños y delicados, que los que se depositan sobre los filamentos irradiantes, o sobre el eje del cordón cromosómico. Estas corrientes llegan hasta ponerse en contacto con la membrana nuclear.

Al mismo tiempo en el protoplasma tienen lugar cambios importantes, que dan por resultado la formación de innumerables inclusiones de forma redondeada u ovalada, pequeñas en un principio, gruesas más adelante, pero siempre mucho mayores que las que se encuentran en el interior del núcleo. Según dejamos descrito en páginas anteriores, el protoplasma adquiere su máximum de colorabilidad, cuando la nebulosidad que envuelve los cromosomas, está también en su apogeo (figs. 55 y 56), y que esa intensa colorabilidad coincide también con la aparición, en diversos lugares del protoplasma, de granulaciones vitelínicas, que van aumentando gradualmente en número y volumen, hasta dejar todo el citoplasma sembrado de ellas. Además, cuando el núcleo se halla en el estado de la diacinesis incipiente (figura 61), en el que los cromosomas han terminado su evolución de crecimiento y depuración, y tienden únicamente a reducir su volumen, esas finas granulaciones quedan casi exclusivamente limitadas a la periferia del núcleo, y en último término, en contacto con la membrana nuclear (figs. 67 y 68).

Pudiera ser muy bien que en virtud de las corrientes generales osmóticas, que sin duda deben establecerse entre el nucleoplasma y el citoplasma a través de la membrana nuclear, como tabique de separación, la cromatina que se desasimila de los cromosomas, pase a través de dicha membrana en forma de pe-

queñísimas micelas, que fácilmente aumentan de volumen, al encontrarse bajo la acción del citoplasma, a cuyo enriquecimiento nutritivo contribuyen en bien de la vesícula germinativa. Estas micelas se hacen visibles tan pronto como llegan al límite de visibilidad del microscopio, que según CASTELLARNAU (1911-19), está comprendido entre 0'2-0'4 de μ. Precisamente ese es el tamaño de los gránulos primeros que se distinguen en el protoplasma (fig. 62, A). Comienzan a presentarse y multiplicarse preferentemente junto a la membrana vitelina, que está en contacto directo con las substancias contenidas en la cavidad celómica.

* * *

Una cuestión muy importante queda por dilucidar en este largo período del gran crecimiento del ovocito. ¿Qué se ha hecho de las dualidades tan manifiestas del estrepsinema incipiente? (figs. 47 a 55). El problema de la reducción numérica de los cromosomas radica en dos puntos principales, a saber: averiguar cómo tiene lugar la sindesis, y ver qué se hace de las dualidades del paquinema y estrepsinema, durante el crecimiento, hasta llegar a la metafase I.

Respecto al primer punto, quedan ya expuestas nuestras observaciones y opinión en las anteriores páginas. La sindesis es zigoténica, es decir, que los dos filamentos que se originan a la salida del reposo, y que no son otra cosa que los mismos cromosomas goniales, se conjugan paralelamente de dos en dos, sin que esa conjugación sea una verdadera fusión de los mismos, sino tan sólo una íntima aproximación, que llega a su máximum en la sinapsis y en el paquinema.

Respecto al segundo punto del problema, hemos de lamentar nuevamente con H. D. KING, que, durante el período del estrepsinema de gran crecimiento, queden tan enmascaradas y ocultas las dualidades, que se hace imposible seguirlas con seguridad al través de sus interesantes mutaciones. Sin embargo,

recordemos que, como hicimos notar en su lugar debido, los conjuntos cromosómicos de los núcleos, representados en las figuras 55, *d* y 56, no son uniformes, sino que presentan bandas obscuras, separadas por intersticios más claros; y que precisamente aquellas bandas obscuras y granugientas corresponden cada una a una dualidad, como puede comprobarse en núcleos, en los que, por su colorabilidad, puede hacerse un análisis más detallado. Posteriormente, esa separación entre banda y banda sigue acentuándose, hasta dar origen cada una a una formación o elemento cromosómico de singular aspecto, erizado de filamentos irradiantes, que imita, a mediano aumento, el aspecto de un miriápodo. En estas formaciones es imposible distinguir ninguna dualidad. Los cordones cromosómicos se resuelven en innumerables filamentos, que cruzan por el núcleo, no pudiéndose asegurar en absoluto si cada elemento corresponde a uno o a dos filamentos del estrepsinema.

Sin embargo, nos parece que, sin que sea un atrevimiento, podemos adelantar una idea. *Cada formación o cordón cromosómico del período de gran crecimiento corresponde a una dualidad.* En primer lugar, porque la especial transformación que sufren estos cordones filamentosos y erizados, con la separación de fajas más claras, da motivo a suponer que, en el resto del período, lo único que sucede es irse acentuando esa separación e individualización de cada banda. En segundo lugar, porque si cada cordón filamentoso correspondiese a un solo filamento del estrepsinema, habríamos de encontrar dentro del núcleo 18 cordones o bandas de esa naturaleza; y el núcleo tendría que presentarse enteramente repleto de ellas, haciéndose imposible observarlas. Y aunque no hemos podido cerciorarnos, ni aun superponiendo los cortes diversos de un mismo núcleo, de si son 9 o 18 las bandas que contiene el núcleo en ese estado, podemos asegurar con bastante probabilidad que 18 bandas no se encuentran. No se pueden contar con seguridad, ni aun superponiendo varios cortes de un mismo núcleo, porque las bandas en

ese período presentan una fragmentación parcial, que, aunque no llega a aislar completamente un trozo de otro, hacen imposible, en una superposición de cortes, referir con certeza cada trozo a su cordón correspondiente. En tercer lugar, porque si cada cordón cromosómico representase un solo filamento del estrepsinema, tendríamos que encontrar, durante la diacinesis, una nueva aproximación, como sucede en el espermatocito, para que de los 18 cromosomas goniales resultasen los 9 cromosomas diacinéticos, que evidentemente aparecen en el núcleo, constituyendo los *gemini.* Ahora bien, durante toda la diacinesis, el único fenómeno que se observa en los cromosomas es su contracción sorprendente, pero ninguna nueva aproximación o aparejamiento. Y como, a pesar de eso, los cromosomas finales *son claramente dobles,* de aquí que podemos deducir con suficiente seguridad — aun lamentando la imposibilidad de la observación directa — que cada cromosoma, *gemini,* de la metafase I representa una dualidad estrepsiténica, que se mantiene individual al través del gran crecimiento del ovocito.

Como, por otra parte, hemos visto que las asas del estrepsinema proceden de las del núcleo paquiténico, formadas éstas a su vez de la sindesis de dos cromosomas goniales, llegaremos a la conclusión de que *los cromosomas diacinéticos representan definitivamente el número reducido de los cromosomas goniales.*

No hemos podido observar esa dualidad o doble valor de estos cromosomas en los núcleos de las figuras 61 y 65. Pero en estados sucesivos, a medida que avanza la metafase, va marcándose más y más la hendidura longitudinal, que separa las dos partes componentes. En los cromosomas que comienzan a ser arrastrados al interior del campo fusorial (figs. 67 y 68) puede ya distinguirse algún indicio en el extremo bilobado de algunos cromosomas. En los núcleos más adelantados (figs. 71, 73, 75, 76 y 77) la hendidura, que casi llega a verdadera separación, es evidentísima.

Metafase.

Los principales puntos que comprende el estudio de la metafase se refieren a la reunión de los cromosomas para constituir la placa ecuatorial, la formación del huso, la comprobación del número de cromosomas, que han de estar en número reducido, constituyendo los *gemini*, y la comprobación, si es posible, de la hendidura que ha de separar sus dos partes constitutivas, como también su modo de insertarse en el huso acromático.

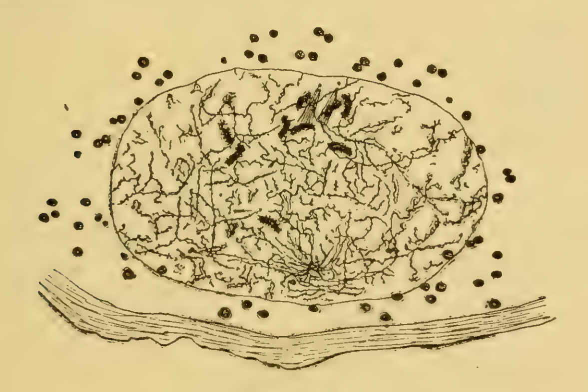


Figura 65.

Principio de la metafase y de la formación del poliedro fusorial. Longitud de los cromosomas: 7 μ aproximadamente. Núcleo: 101 × 60 μ. Célula: 338 × 182 μ. × 750.

Conforme va avanzando la diacinesis, los cromosomas disminuyen grandemente de tamaño y quedan dispersos por toda la cavidad nuclear, pues la membrana aún no ha desaparecido, ni presenta todavía señales de disolución. Los nueve cromosomas representados en la figura 65 proceden de cuatro cortes de un mismo núcleo, y se han superpuesto en proyección para determinar la posición de los mismos en el interior de la cavidad. Se ve que, en su mayoría, se han reunido en la región del núcleo más apartada de la membrana vitelina, y más cercana, por consi-

guiente, al centro del citoplasma en dirección al conducto del micropilo.

Su número es de nueve: número haploídico.

No creemos que se reúnan por pares, y, aunque la figura parezca indicarlo un poco, lo juzgamos cosa puramente casual. En primer lugar, por su comparación con la metafase en la espermatogénesis, que reproducimos (fig. 66); y, en segundo lugar, porque, no existiendo el heterocromosoma, o cromosoma X, no pueden verificarse los apareamientos con nueve elementos enteramente iguales, y que, según hemos visto, siguen idéntico proceso en su desarrollo.



Figura 66.
Metafase en el espermatocito. Cromosomas bivalentes. × 2.250.

Han ido perdiendo y reabsorbiendo paulatinamente todas las expansiones filamentosas que los erizaban en estados precedentes; pero su contorno no es todavía enteramente liso. Sobre su superficie se encuentran adheridos pequeñísimos gránulos, enteramente iguales a los que están dispersos sobre los delgados filamentos que recorren el carioplasma.

En estos cromosomas no se pueden distinguir sus dos porciones constitutivas: únicamente se ve un bastoncito sólido, macizo y de superficie granugienta.

Su longitud es de unas 6 a 7 μ. Si suponemos, como parece probable, que el cordón mayor de la figura 58 representa un cromosoma entero, su longitud es de unas 21 μ. Véase, pues, qué contracción tan notable han experimentado.

Cuando ya van entrando en el campo fusorial (figs. 67 y 68) pierden su contorno granugiento y se presentan completamente lisos, aislados uno a uno, y a veces *con los extremos bilobados,* como puede comprobarse en los cromosomas de las figuras citadas. Son rectilíneos o algo tortuosos, pero no tienen el aspecto de bola o de huevo que se ve en los cromosomas metafá-

sicos del espermatocito (fig. 66). La dualidad y bivalencia de estos cromosomas sigue acentuándose grandemente, al mismo tiempo que se constituye y define el huso acromático; de manera que, cuando se esboza la escotadura que determina la formación del cinoplasma y los cromosomas se hallan en ella (figura 70), la hendidura longitudinal se hace bastante manifiesta en algunos de ellos; y llega a ser evidentísima al hallarse colocados sobre los filamentos del huso (fig. 73); y más aún, si cabe, cuando el huso está en las últimas etapas de su formación (figura 77). Fenómeno, por otra parte, muy general, que no hace más que preparar el trabajo de separación que se llevará a cabo, durante la anafase, y justifica el nombre de *gemini* que se da a estos cromosomas.

Cuando el campo fusorial ha quedado muy reducido y comienzan a formarse las líneas del huso, los cromosomas van tomando las conocidas formas definitivas de la metafase. Las presentan muy variadas (fig. 69 y siguientes), a saber: en forma de dos trazos paralelos II, en forma de V o de U, y en forma de un uno o gancho 1, según sea el punto de inserción al huso acromático.

Los *gemini* ha seguido contrayéndose, de modo que en el estado de la figura 75 miden de 4 a 5 μ; y en el más avanzado que hemos podido observar, que es el representado en la figura 77, su tamaño queda reducido a unas 2 a 3 μ. Recuérdese que la longitud de los cromosomas de la metafase gonial (fig. 27) es de 2'2 μ.

No habiendo podido sorprender en todo nuestro material ninguna anafase, nada podemos decir respecto a la colocación de los *gemini* en la placa ecuatorial, esto es, si su inserción es en *superposición* o en *yuxtaposición*. Las variadas y diversas posiciones que tienen los cromosomas con respecto al eje del huso (fig. 77), tampoco permiten suponer nada en concreto. Recordaremos, sin embargo, que en la espermatogénesis la inserción es en superposición manifiesta. En el caso actual de la ovo-

génesis nos atrevemos a manifestar la sospecha de que la *inserción es en superposición;* pues para presumir que pudiera ser en yuxtaposición, los cromosomas-gemini deberían ya presentar, en el avanzado estado en que se encuentran, algún indicio de *división transversal* en sus dos ramas componentes.

Si esto es así, la primera anafase separará a cada polo del huso un cromosoma gonial entero para cada célula-hija; y, por consiguiente, *la anafase I es la que verdaderamente lleva a cabo la reducción numérica de los cromosomas,* al igual que en la espermatogénesis.

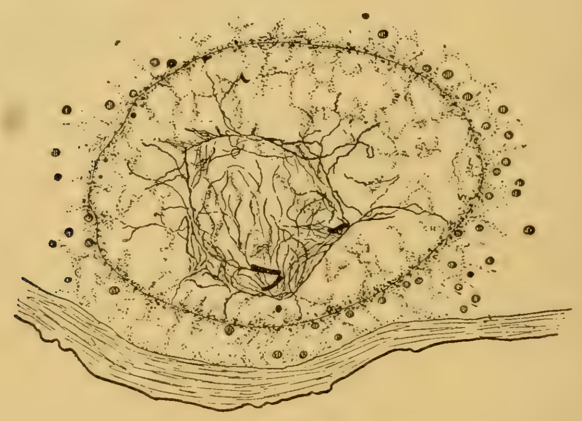


Figura 67.

Pentágono fusorial. Longitud de los cromosomas: 6 a 7 μ. Núcleo: 106 × 77 μ. Célula: 251 × 109 μ. × 750.

Esta misma falta de división transversal en los *gemini* es una prueba de que no existen las diadas ni tetradas consignadas por Stevens. Podemos presentar muchas figuras, en las que no sólo hay apariencias de diadas y tetradas, en absoluto idénticas a las tomadas por dicho autor como tales, sino otros muchos elementos pareados y seriados que claramente indican su naturaleza.

Formación del huso. — Quédanos por estudiar la formación del huso, que se presenta de un modo muy particular en la ovogénesis de la *Sagitta.* La trama general que recorre la cavidad

carioplásmica en diferentes direcciones (fig. 61) pierde paulatinamente los gránulos que la incrustan, y queda reducida a una red de filamentos sumamente delicados. Estos filamentos presentan casi las mismas inflexiones que la trama de la cual procede, y todavía llevan adheridos algunos pequeñísimos gránulos, que constituyen una nueva confirmación de su procedencia de la trama (fig. 65). Pero a diferencia de lo que sucede en ésta, en donde no hay ninguna región en la que se agrupen con preferencia las mallas de la misma, ahora los filamentos manifies-



Figura 68.
Vértice obtuso del poliedro fusorial con un centrosoma.
(El mismo ovocito de la figura anterior). ×750.

tan una clara tendencia a converger en una región del núcleo, proximal a la membrana vitelina. Los filamentos no siguen direcciones tan tortuosas como las mallas de la trama; su trazado se hace algo rectilíneo. En la figura anterior se ven varios que parten del centro de convergencia y otros perpendiculares o casi perpendiculares a los primeros. Más tarde se destacan algunos de estos filamentos en forma tal, que constituyen una figura poliédrica bipiramidada, cuya sección transversa es aproximadamente pentagonal (fig. 67). Observando esta formación en cortes sucesivos a un lado y otro del representado en esa

figura, que casi está dado en su mitad, se ve que se estrecha gradualmente, terminando por ambos extremos en vértice achatado (fig. 68), en el que no puede ya apreciarse el contorno pentagonal.

Su situación en el interior del núcleo es perpendicular por su eje mayor, al eje mayor del núcleo que es ovalado. No está colocada en el centro, sino en la región cercana a la membrana vitelina.

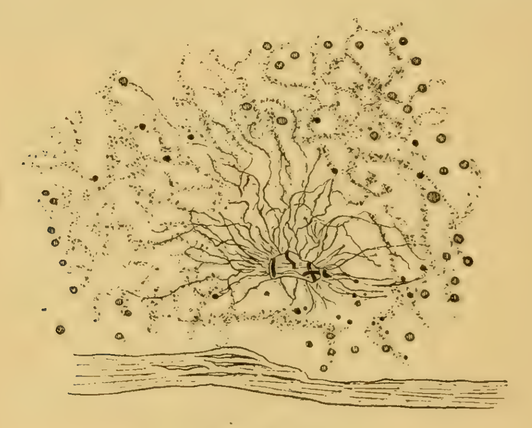


Figura 69.
El campo fusorial.—Membrana vitelina con resquebrajaduras.
Célula: 299 × 109 μ. × 750.

Del campo pentagonal, o mejor, de la superficie filamentosa, que forman las caras de este poliedro bipiramidado, sobresalen algunos filamentos que se extienden por la cavidad nuclear, pero no llegan a unirse con la membrana del núcleo; de manera que esta formación ha roto sus comunicaciones con la misma. El interior del poliedro está también cruzado por multitud de filamentos, más bien ondulados que tortuosos, los cuales predominan en la región próxima a la membrana. En esta región los filamentos forman ondas, que van de un lado a otro del poliedro, y de allí mismo salen las otras, que recorren el centro del mismo. Esta estructura se conserva en toda la extensión del poliedro, aunque parece que se retuerce un poco, pues en la figu-

ra 68, la región, en que se acumulan los filamentos, mira al centro del núcleo y no a la periferia. En un punto de esta región de convergencia están situados los centrosomas, que en un principio ocupan los extremos polares del poliedro.

Dentro del espacio limitado por esta singular formación quedan aprisionados los nueve cromosomas, que se presentan con su superficie completamente lisa y limpia de todo gránulo. Primeramente están dispersos por ese espacio, y aun con preferen-



Figura 70.
Formación del huso. Reaparición de la hendidura longitudinal en los cromosomas. Célula: 329 × 232 μ. × 750.

cia se colocan en el lado opuesto al lugar de convergencia de las fibras (fig. 65). Después son arrastrados hacia ese punto, que es precisamente el lugar en que se formará el *campo fusorial*. La longitud de los cromosomas en este estado es de unas 6 a 7 μ; algunos tienen un extremo algo bilobado, indicio de su bivalencia.

Este poliedro, que podríamos llamar algo impropiamente *ovoide fusorial*, se va empequeñeciendo gradualmente en todas sus dimensiones, y al fin constituye el llamado *campo fusorial* (fig. 69), en cuyo interior quedan aprisionados los cromosomas. La longitud de éstos es de unas 5 μ. El campo fusorial, cortado transversalmente, es alargado, y su contorno recuerda algo el

perímetro pentagonal de la figura que lo ha producido. Está limitado por una línea bien destacada y cerrada. De su periferia parten una multitud de radios, que divergen a modo de áster por el campo nuclear (a este tiempo no puede hablarse de cavidad nuclear, pues de ordinario la membrana ha desaparecido, o está en vías de disolución). Estas líneas irradiantes son más numerosas en la parte que mira al centro del ovocito, que en la región próxima a la membrana vitelina. El interior del campo fusorial está recorrido de un lado a otro por una multitud de filamentos finísimos, que siguen direcciones aproximadamente paralelas. Al mismo tiempo la región, que ocupaba el núcleo, comienza a verse invadida por los gruesos gránulos vitelínicos, los cuales, sin embargo, no llegan todavía a la parte ocupada por las fibras irradiantes. Más tarde se rompe la línea que limita el campo fusorial, y las fibras irradiantes exteriores entran en relación (fig. 70) con las que se encuentran en el interior del campo, originando una formación única en una pequeña escotadura que se forma cercana a la periferia de la región, que ocupaba el núcleo. Los cromosomas comienzan a dejar ver su hendidura longitudinal. En algunos núcleos (fig. 71), en los cuales se ha retrasado un poco la desaparición de la membrana, se observa que todas estas transformaciones se verifican en las cercanías de la periferia, y que las fibras que intervienen en esta formación, se ponen en comuni-



Figura 71.

Formación del huso. — Los nueve cromosomas diacinéticos bivalentes. (Los tres contenidos en el cuadro pertenecen al mismo núcleo y han quedado separados en otro corte por el microtomo). Hendidura longitudinal evidente. Célula: 352 × 210 μ. × 2.250.

cación con la misma membrana por el medio de una laxa red de fibras. Las fibras del huso se orientan ya hacia los polos, atraídas por los centrosomas, uno de los cuales es visible y grueso. La hendidura longitudinal de los cromosomas es evidentísima: están presentes seis de ellos en el corte: al lado hemos dibujado los otros tres, tomados del corte siguiente del mismo núcleo. Total: nueve cromosomas dobles, bivalentes.

Las líneas del campo siguen acentuándose cada vez más y, reuniéndose, dan origen a un *huso múltiple* (fig. 72), cuyo eje

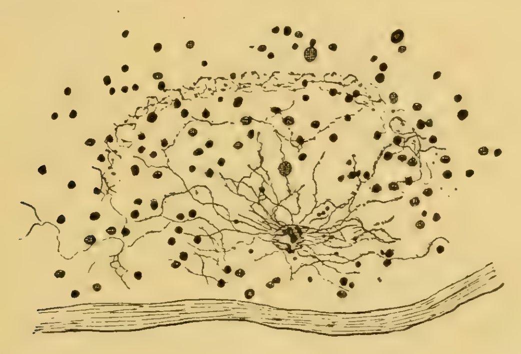


Figura 72.

Formación del huso.—Huso múltiple, paralelo a la membrana vitelina. Célula: 329 × 217 μ. × 750.

principal, como ya notó Stevens, es paralelo a la membrana vitelina. De la periferia de este huso siguen partiendo divergentes una infinidad de radios, que se extienden por alrededor. Los granos del vitelo invaden ya todo el campo, aunque los voluminosos se mantienen a distancia del huso. Este huso múltiple está constituído por husos parciales, reunidos lateralmente, formando un paquete.

Hemos notado (y así puede verse en las figuras) que cada cromosoma posee el suyo propio. Así en la figura 73 hay cuatro husos sencillos con cuatro cromosomas; en la figura 75 otros cuatro cromosomas con cuatro husos bien determinados y otro huso incompleto; en la figura 76 — que es la otra porción del

mismo núcleo, cortado en dos por el microtomo (1) — están los cinco cromosomas restantes, contenidos en cuatro husos, bien determinados y la porción del otro seccionado. Las fibras pasan tangentes a los cromosomas, y forman la porción de huso, llamada *mantlefibres,* o fibras en manto. Queda, por consiguiente, en su interior una cavidad, libre de fibras y ocupada por el cromosoma. Lo cual hizo creer a STEVENS, que lo examinó a pe-

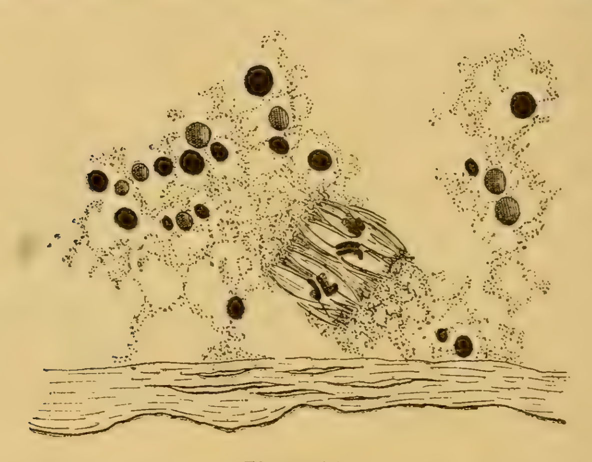


Figura 73.

Huso múltiple, que gira para ponerse perpendicular a la membrana vitelina.—Cuatro cromosomas bivalentes. Membrana con resquebrajaduras. A usencia de áster. Célula: 252 × 161 μ. (Muy deformado este ovocito a causa de estar en el momento de iniciarse la expulsión). × 2.250.

queño aumento, que los cromosomas estaban, cada uno, contenido en una vesícula, y que las fibras del huso no se sueldan a ellos. Efectivamente, se comprende con facilidad que un corte transversal de este conjunto de husos sencillos ha de presentarse como un conjunto de vesículas, en cuyo interior están los cromosomas.

Han desaparecido por completo las fibras irradiantes.

---

(1) Téngase en cuenta que los cortes están hechos a 5 μ con el microtomo de Minot.

El carioplasma se ha mezclado uniformemente con el citoplasma: los cuerpos vitelínicos llegan hasta las proximidades del huso múltiple. La membrana vitelina empieza a mostrar resquebrajaduras por el punto en que ha de dar paso al primer cuerpo polar. El huso múltiple que ocupaba una posición tangencial (fig. 72), va girando lentamente (fig. 73) hasta ponerse en posición perpendicular a la membrana, y se acerca mucho a ella (fig. 74). Aumentan las resquebrajaduras. Alrededor del huso queda un campo libre de gránulos del vitelo. No hemos

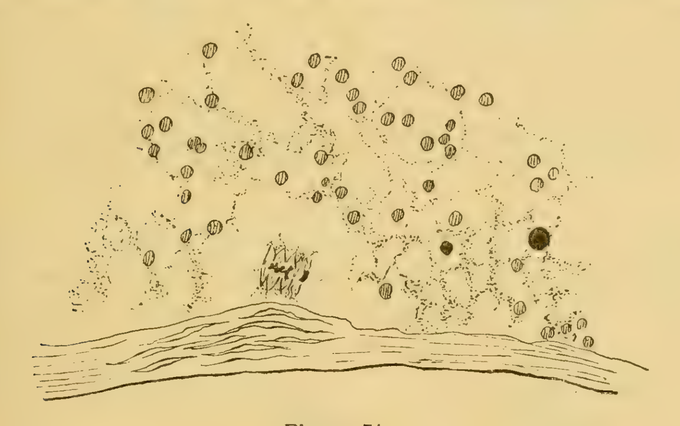


Figura 74.

Huso múltiple, perpendicular a la membrana vitelina. —Membrana con numerosas resquebrajaduras. Ausencia de áster. ×750.

podido ver los centrosomas en estas fases de huso múltiple, a pesar de que al comenzar a formarse (fig. 68), y aun estando en formación bastante avanzada (fig. 71), lo pudimos ver perfectamente. Los polos de todos estos husos están ocupados por finísimos gránulos, que no forman ningún áster. Parecen ser los mismos gránulos que recorren la cavidad del óvulo, y que, al quedar aislado el huso, han permanecido adheridos a sus fibras.

Por fin aparecen los centrosomas (fig. 77), los cuales van reuniendo los polos de los diversos husos en dos puntos de convergencia para formar un solo huso. En la figura adjunta se ve el trabajo que efectúan los centrosomas. Uno ha logrado reunir

ya todos los polos de un lado en un polo único; el otro no ha llegado aún al término de su camino, y va corriéndose por la superficie de los husos parciales, recogiendo sus fibras, ar-



Figura 75.

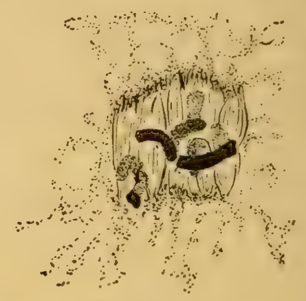


Figura 76.

Metafase, cortada en dos porciones por el microtomo.—Los nueve cromosomas bivalentes (gemini). Longitud de los cromosomas: 4 a 5 μ. ×2.250.

queándolas y obligándolas a reunirse en el otro polo. En el polo ya formado han desaparecido la mayoría de los gránulos; en el otro quedan aún muchos, sobre todo encima de las fibras más apartadas del centrosoma.



Figura 77.

Formación del huso único.— Los dos centrosomas. Los nueve cromosomas bivalentes (gemini). Ausencia de áster. Longitud de los cromosomas: 2 a 3 μ. ×2.250

Tampoco aquí hemos visto que se forme el áster.

Los cromosomas no están todavía colocados en el ecuador. Pero de todas maneras hay cuatro que están en una fila media y perfectamente en un mismo plano ecuatorial. En un plano superior hay tres más, y en otro inferior los dos restantes: total, nueve cromosomas bivalentes. Es de esperar que todos los cromosomas se irán colocando en el mismo ecuador, y constituirán la placa ecuatorial, término de la metafase.

Las formas de los cromosomas son las ya conocidas y las hemos anotado anteriormente.

No puede predecirse por la observación directa el modo cómo tendrá lugar la inserción de los cromosomas en sus correspondientes fibras, si será en superposición o en yuxtaposición, aunque ya hemos dicho en otra parte que esta inserción es, probablemente, en superposición.

* * *

Hasta aquí han llegado nuestras observaciones sobre la ovogénesis en la *Sagitta bipunctata*. El material no nos ha proporcionado ocasión de presenciar el término de la metafase, ni menos ninguna anafase, ni la expulsión de los cuerpos polares.

Discusión.

Después de lo expuesto, poco nos queda que añadir para la discusión de las observaciones que preceden, relativas a la reducción numérica de los cromosomas en la ovogénesis de la *Sagitta bipunctata,* que es el fin principal que nos habíamos propuesto en el presente trabajo. Haremos, sin embargo, algunas anotaciones, remitiendo para lo demás al lector a nuestro anterior trabajo de 1914, ya que el perfecto paralelismo que se observa en los dos procesos, espermatogonial y ovogonial, sugiere las mismas ideas y permite las mismas conclusiones en el uno que en el otro caso.

Por lo que atañe al período ovogonial, la insuficiencia de nuestras observaciones directas acerca del modo de verificarse la división no puede servir de apoyo valedero y seguro ni a la opinión de Dehorne (1910), ni a la generalmente admitida.

Dehorne opina que los cromosomas que aparecen en la placa ecuatorial de la metafase gonial, no son verdaderos cromosomas enteros, como generalmente se admite, sino mitades de cromosomas; y que estos medios cromosomas se encuentran ya, desde

un principio, en el mismo núcleo gonial quiescente, puesto que ya aparecen en la telofase anterior; es decir: que durante una telofase cualquiera, los cromosomas, que han ascendido al polo respectivo, se dividen longitudinalmente en dos; y, por consiguiente, lo que verdaderamente hay en el núcleo en reposo, consecutivo a la telofase, es un número de filamentos doble del de cromosomas, porque esos filamentos son cromosomas-mitades. De aquí que, al reunirse en la metafase, para dar origen a la placa ecuatorial, deben hacerlo juntándose por pares, a fin de que queden constituídos los verdaderos cromosomas, que en nuestro caso serían nueve. Afirma, pues, DEHORNE que la hendidura longitudinal, tan patente en los cromosomas de la metafase espermatogonial (fig. 28), y que está latente en la metafase ovogonial (fig. 27), no es la verdadera hendidura anafásica, que separará los cromosomas-hijos, sino que es una hendidura telofásica. La verdadera hendidura anafásica, según DEHORNE, es la misma separación que hay entre bastoncito y bastoncito en la placa ecuatorial. Por eso, en dicha placa ecuatorial, los bastoncitos siempre se reúnen por pares de cromosomas-hijos.

Hemos de decir aquí lo mismo que expusimos al estudiar la espermatogénesis, a saber: que nuestras observaciones no están conformes con esta teoría del sabio citólogo de Lille. La formación de los cromosomas en la profase de los oogonios en la *Sagitta* no confirma la opinión de DEHORNE. Aun admitiendo que se presentan primeramente bajo la forma de dos filamentos pareados (fig. 26), cada par de filamentos finos primitivos se unifica para dar origen a un solo individuo, que no guarda relación alguna con sus vecinos. La hendidura o separación que en un principio mantiene a un fino filamento a distancia de otro, puede muy bien provenir ya de la telofase precedente; pero en la próxima anafase se convertirá en hendidura o separación anafásica, que separará a cada polo uno de esos filamentos primitivos. De manera que la hendidura que se observa en los bastoncitos de la metafase (fig. 28) es la misma que aparece en la profase (figu-

ra 26) entre cada dos filamentos primitivos. La próxima anafase separará bastoncitos-mitades a cada polo, y no, como quiere DEHORNE, bastoncitos enteros. Son verdaderos cromosomas y no medios cromosomas. Por lo tanto, el número de cromosomas natural, diploídico y no reducido en la *Sagitta* es 18.

Claro es que el mejor medio de averiguarlo con certeza es ver positivamente la división longitudinal durante la anafase precisa. Por desgracia no hemos podido observar ninguna anafase. Y aunque la hubiésemos encontrado, probablemente no nos hubiese proporcionado nuevos datos, pues es de esperar que los 18 cromosomas se acumulan íntimamente unos contra otros, como sucede en los espermatogonios, de tal manera, que sea imposible ver con claridad la división longitudinal de los 18 cromosomas y no de 9, y la ascensión polar de 18 mitades y no de 9.

De todas maneras conviene hacer notar que ninguna de nuestras observaciones favorece la opinión de DEHORNE.

La hipótesis de DEHORNE exige además que, ya que los bastoncitos de la metafase (fig. 27) son cromosomas-mitades, se presenten en la placa ecuatorial pareados, formando lo que en su sentir son los verdaderos cromosomas (nueve). Ahora bien, basta inspeccionar las dos metafases para convencerse de que entre los 18 bastoncitos no hay ninguna relación de dependencia dos a dos. Están agrupados para formar la placa ecuatorial y nada más. Son, por consiguiente, 18 individualidades.

Aplicando la hipótesis de DEHORNE a las cinesis reductoras, resultaría que el número natural y no reducido de cromosomas en la *Sagitta*, habría de ser nueve. Y en este caso no pueden quedar reducidos a número mitad y haploídico, a menos que existiese un heterocromosoma o cromosoma X. Pero es lo cierto que en la *Sagitta* no existe ningún heterocromosoma. Según los estudios de VON BAEHR (1909), GUTHERZ (1906 y 1911), MAC CLUNG (1901, 1902 y 1905), MONTGOMERY (1898, 1901, 1904 y 1905), STEVENS (1905, 1906 y 1908), BOVERI (1911), SCHLEIP (1011), ZARNIK (1912), FERNÁNDEZ-NONÍDEZ (1914) y todos los autores

que han observado el caso, los heterocromosomas siguen en su formación un proceso distinto del de los cromosomas ordinarios. Conforme queda expuesto, las nueve asas que observamos en el paquinema (fig. 37), siguen todas el mismo proceso formativo y cada una de origen igualmente a un cromosoma bivalente metafísico (fig. 77), que en nada se diferencia de los demás. Por consiguiente, el número reducido y haploídico de cromosomas es nueve.

* * *

Pasemos ahora a examinar cuál es el valor y qué representan las asas del paquinema.

Según P. Buchner y N. M. Stevens, las asas del paquinema derivan directamente de la última telofase gonial, sin que exista el reposo citario profásico. Además, según el primero de dichos autores, es absolutamente cierto que no hay conjugación parasindética de los cromosomas goniales. Admite la metasindesis, sin apoyar su opinión en ningún documento, y exclusivamente fundado en que los filamentos de su figura 12, «son excesivamente delgados, para que permitan reconocer una división longitudinal, pero suficientemente largos, para que permitan reconocer una hipotética división transversal». Ya dijimos en otra parte que esa razón no es convincente.

La equivocación de Buchner radica en que, para su somera descripción, parte del estrepsinema, pues él mismo confiesa que no existen los estados anteriores al «bouquet»; es decir, que parte de un estado en el que ya ha tenido lugar no sólo la sindesis, sino los primeros tiempos del desdoblamiento longitudinal. No ha visto estado alguno anterior al paquinema, puesto que dice, al igual que Stevens, que dicho estado deriva inmediatamente de la última telofase gonial. De aquí que, al observar el estrepsinema, cuyos filamentos, como hemos visto, son delgados, sobre todo al principio (figs. 47 y 48), ha creído que en ellos no era posible suponer una división longitudinal futura, y, por consiguiente, ningún apareamiento paralelo anterior, pues,

de haber tenido lugar esa conjugación, los filamentos deberían ser más gruesos.

Pero, ya queda demostrado que el apareamiento parasindético no se verifica durante el estrepsinema, sino en un estado anterior, que llamamos *sindesis*, y en nuestro caso *zigonema* (figura 35). Es evidente, y también lo admitimos, que cada filamento del estrepsinema no es doble. Al llegar a ese estado ya ha tenido lugar la duplicación; y no solamente ha tenido lugar, sino que, verificado el fenómeno de la sinapsis y el del paquinema, los filamentos han vuelto a quedar más o menos aislados, aunque mutuamente relacionados por frecuentes paralelismos y entrecruces. Tiene razón BUCHNER, al decir que los filamentos, tal como los representa su figura 12 (fig. 78), no permiten reconocer división ninguna longitudinal: tampoco le reconocemos nosotros en los filamentos aislados de nuestras figuras 47 y siguientes.



Figura 78.

La figura 12 de P. BUCHNER. El aumento es pequeño.

El error de BUCHNER está: 1.°, en que no ha observado, como él mismo confiesa, estados anteriores al *bouquet* o paquinema; 2.°, en considerar el estrepsinema, como el estado en que tiene lugar la sindesis; siendo así que ésta tiene lugar en estados anteriores a los observados por el autor.

No puede objetarse a esto que los núcleos de nuestras figuras 33, *c*, 34 y 35, representan ya el estrepsinema. La seriación, que hemos expuesto en nuestro trabajo, nos parece rigurosamente exacta. El paso desde la salida del reposo citario, representado por las figuras 29, 30, 31, 32, 33, *a*, *b*, al estado del paquinema (figs. 37 y 38...) y al del estrepsinema (figs. 47 y 48...) nos parece que se verifica naturalmente por el intermedio de las figuras 33, *c*, 34 y 35. No es posible otra seriación.

El crecimiento progresivo del tamaño del núcleo y del ovocito nos confirma en lo mismo. Remitimos al lector a las medidas consignadas precedentemente.

Además, si admitiéramos la metasindesis, que propone BUCHNER, deberíamos encontrar, durante el largo período del estrepsinema, un momento en el que los filamentos estrepsiténicos se replegasen por su mitad, colocándose una rama al lado o encima de la otra, para originar los cromosomas definitivos diacinéticos de dos ramas (fig. 77). El replegamiento de los filamentos es consecuencia necesaria de la conjugación metasindética; a no ser que, para explicar la presencia de las dos ramas en los cromosomas finales, quiera admitirse que, aun estando los filamentos estrepsiténicos unidos por sus extremos, *end to end,* presenten una hendidura longitudinal, que no podría ser otra que la de la anafase II. Pero en este caso sería forzosa la existencia de tetradas; cosa que tampoco tiene lugar en los ovocitos de la *Sagitta;* y STEVENS, que las admite, es en cambio partidario de la parasindesis.

STEVENS admite también que el paquinema deriva inmediatamente del último reposo gonial, durante el cual tiene lugar la sindesis. Y apoyándose en la existencia de diadas y tetradas, admite las dos divisiones longitudinales de los cromosomas metafásicos, durante la primera y segunda cinesis. Lo cual supone la conjugación parasindética, *side by side.*

Con respecto al primer punto, hemos de contestar lo mismo que a BUCHNER, es decir, que las asas del paquinema no derivan directamente de la última telofase gonial sin intervenir el reposo citario, sino que se forman por un largo proceso, que comprende todos los estados prepaquiténicos, incluso la sinapsis.

Con respecto al segundo punto, no podemos admitir la existencia de diadas y tetradas, a pesar de que hemos visto y podríamos presentar innumerables figuras, idénticas a las pretendidas diadas y tetradas de STEVENS. Pero esas figuras nada tienen que ver con la reducción numérica de los cromosomas, ni con el núcleo, ni siquiera con el ovocito.

La conjugación es ciertamente parasindética por zigotenia;

pero la formación de los cromosomas metafásicos definitivos no tiene relación con diadas y tetradas. Su formación y desarrollo sigue el proceso que dejamos expuesto en las páginas anteriores.

Conclusiones.

1.ª La cinesis de maduración en la ovogénesis de la *Sagitta bipunctata* comprende todos los estados clásicos de las cinesis de reducción, que no han sido observados por Stevens, ni Buchner.

2.ª Los cromosomas somáticos aparecen en forma de banda, formada, en algunos trozos, por dos filamentos alveolizados y pareados.

3.ª Estas bandas o pares de filamentos se reúnen en un solo filamento no alveolizado, ni dividido.

4.ª Cada uno de estos últimos filamentos da origen a un cromosoma gonial metafásico.

5.ª Estos cromosomas son independientes entre sí, sin presentar ninguna relación, ni dependencia por pares, como quiere Dehorne.

6.ª El número de cromosomas metafásicos es de 18. Este es el número normal y diploídico en la *Sagitta*.

7.ª Las asas del paquinema no derivan directamente de la última telofase gonial, sin intervenir un estado de reposo.

8.ª Existe toda la profase citaria, incluso los estados anteriores al paquinema. Los cromosomas citarios aparecen en forma de bandas alveolizadas.

9.ª Cada banda se transforma en un filamento único, que conjugándose lateralmente con otro, origina un asa del paquinema.

10. Las asas del paquinema son nueve: están orientadas hacia un mismo lado, con los extremos enteramente libres, formando la figura conocida con el nombre de «bouquet».

11. De cada asa reaparecen, por separación longitudinal, dos

filamentos entrelazados y relacionados entre sí, constituyendo el estrepsinema.

12. Los filamentos estrepsiténicos crecen desmesuradamente, rodeándose de una nube de gránulos, como efecto de su nutrición y de la depuración de su cromatina.

13. Cada par de filamentos da origen a una banda granulosa, más o menos separada de las demás.

14. Cada banda granulosa se transforma en un cordón cromosómico, que emite numerosos filamentos, y que acortándose origina un cromosoma diacinético.

15. Los cromosomas diacinéticos son nueve. Este es el número reducido y haploídico.

16. Los cromosomas metafásicos se componen de dos ramas, y dejan ver claramente la hendidura longitudinal, que las separa.

Esta hendidura es la misma que se observa en el estrepsinema.

17. Las ramas del estrepsinema representan los mismos filamentos del leptonema.

18. Los filamentos del leptonema representan, cada uno, un cromosoma gonial.

19. Las asas paquiténicas se originan por zigotenia en el paquinema, en donde tiene lugar una pseudoreducción.

20. Cada rama del cromosoma citario metafásico representa un cromosoma gonial.

21. La verdadera reducción tiene lugar en la anafase I, que es eumeiótica.

22. La formación del huso comienza por la aparición de un poliedro bipiramidado, que se convierte en campo fusorial por disminución de volumen.

23. Se forma primeramente un huso múltiple.

24. El huso múltiple se transforma en huso único normal.

25. Los cromosomas metafásicos se insertan en este huso en superposición.

Mayo de 1920.

BIBLIOGRAFÍA (*)

ALLEN (C. E.).

1905. — Das Verhalten der Kernsubstanzen während der Synapsis in den Pollenmutterzellen von *Lilium canadense*. (Jarhb. f. wiss. Bot.).

BAEHR (W. B. VON).

1912. — Contribution a l'étude de la caryocinèse somatique, de la pseudoréduction et de la réduction de l'*Aphis saliceti*. (La Cellule, vol. 27).

BENEDEN (E. VAN).

1883. — Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire. (Arch. de Biol., vol. 4).

BOLLES-LEE (A.).

1902. — L'éclairage et l'emploi du condensateur dans la micrographie histologique. (La Cellule, vol. 19).

BONNEVIE (K.).

1905. — Das Verhalten des Chromatins in den Keimzellen von *Enteroxenos östergreni*. (Anat. Anz., vol. 26).
1906. — Untersuchungen über Keimzellen: I. Beobachtungen an den Keimzellen von *Enteroxenos östergreni*. (Jenaische Zeitschr., vol. 41).

BORDÁS (M.).

1914. — Doctrinas actuales sobre la reducción numérica de los cromosomas y su aplicación a la espermatogénesis de la *Sagitta bipunctata* Quoy. et Graim. (Mem. Soc. Esp. Hist. Nat., vol. 10).

BOVERI (TH.).

1899. — Die Entwicklung von *Ascaris megalocephala* mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. (Festschr. f. 70. Geburstag von C. v. Kupfer).

(*) Me es muy grato manifestar mi reconocimiento al Dr. D. Santiago Ramón y Cajal por las facilidades que me ha dado para consultar su biblioteca.

Buchner (P.).

1910. — Keimbahn und Ovogenese von *Sagitta*. (Anat. Anz., vol. 35).

1910.— Die Schicksale des Keimplasmas der Sagitten in Reifung, Befruchtung, Keimbahn, Ovogenese und Spermatogenese. (Festschr. für R. Hertwig).

Carnoy y Lebrun.

1897-1900. — La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens. (La Cellule, vol. 12, 14, 16, 17).

Castellarnau (J. M.).

1911. — Teoría general de la formación de la imagen en el microscopio. (Junta para Ampliación de Estudios, Madrid).

1919. — La imagen óptica. Telescopio y microscopio. (Conferencias dadas en la Residencia de estudiantes, Madrid).

Dehorne (A.).

1910. — La valeur des anses pachytènes et le mécanisme de la réduction chez *Sabellaria spinulosa*. (C. R. de l'Acad. de Sci. de Paris, vol. 150).

1910. — Le mécanisme de la réduction numérique dans la spermatogenèse de *l'Ophryotrocha puerilis*. (Zool. Anz., vol. 36).

1910. — Recherches sur la division de la cellule: I. Le duplicisme constant du chromosome somatique chez *Salamandra maculosa* Laur. et *Allium cepa* L. (Archiv. f. Zellfors., vol. 6).

1911. — Recherches sur la division de la cellule: II. Homéotypie et hétérotypie chez les Annélides polychètes et les Trematodes. (Archiv. de Zool. exp. et gén., 5.ª serie, vol. 9).

Déton (W.).

1908. — L'étape synaptique dans le *Thysanozoroon Brocchii*. (La Cellule, vol. 25).

Duesberg (J.).

1915. — Recherches cytologiques sur la fécondation des Ascidiens et sur leur développement. (Publ. 223 of the Carnegie Institution of Washington).

1915. — Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. (Arch. f. Zellfors., vol. 6).

Farmer (J.) y Moore.

1903. — New investigations into the reduction phenomena of animals and plants. (Proc. Roy. Soc., vol. 72).

FERNÁNDEZ-NONÍDEZ (J.).

1914. — Los cromosomas en la espermatogénesis del *Blaps lusitanica* Herbst. (Trab. del Museo Nac. de Cien. Nat., Madrid, serie zool., núm. 18).

1915. — Estudios sobre las células sexuales: I. Los cromosomas goniales y las mitosis de maduración en *Blaps lusitanica* y *Blaps Waltli.* (Mem. de la R. Soc. Esp. de His. Nat., vol. 10).

GRÉGOIRE (V.).

1904. — La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation. (La Cellule, vol. 21).

1905. — Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes. Premier mémoire. (La Cellule, vol. 22).

1910. — Les cinèses de maturation dans les deux règnes. L'unité essentielle du processus méiotique. Seconde mémoire. (La Cellule, vol. 26).

1912. — Les phénomènes de la métaphase et de l'anaphase dans la caryocinèse somatique. A propos d'une interprétation nouvelle. (Ann. de la Soc. Sci. de Bruxelles, vol. 36).

HERTWIG (O.).

1880. — Die Choetognathen. Eine Monographie. (Jen. Zeits. f. Naturw., vol. 24, N. F. vol. 7).

JANSSENS (F. A.).

1909. — La théorie de la chiasmatypie. Nouvelle interprétation des cinèses de maturation. (La Cellule, vol. 25).

KELICOTT (W.).

1913. — A Text-book of general Embryology. (Henry Holt and Co., New York).

KING (H. D.).

1907. — The oogenesis of *Bufo lentiginosus.* (Journ. Morph., vol. 19).

KORSCHELT (E.) ET HEIDER (K.).

1900. — Text-book of the Embryology of Invertebrates. (Swan. Sonnenschein et Co. London).

LEPLAT (G.).

1910. — La spermatogenèse chez le chat *(Felis catus).* (Arch. de Biol., vol. 25).

LERAT (P.).

1905.—Les phénomènes de maturation dans l'ovogenèse et la spermatogenèse du *Cyclops strenuus*. (La Cellule, vol. 22).

LEVI (G.).

1905.—Sulla differenziazione del gonocita e dell'ovocita degli Anfibî con speciale riguardo alle modificazioni della vesicola germinativa. (Archi. di Anat. e di Embr., vol. 4, Firenze).

LOYEZ (M.).

1909.—Le corps vitellin de l'oocyte de *Pyrrhocoris apterus*. (Arch. d'Anat. micros., vol. 10).

MACBRIDE (E. W.).

1911.—Text-book of Embryology. (Macmillan and Co., London).

MUNSON (J. P.), PH. D.

1906.—Spermatogenesis of the Butterfly *Papilio rutulus*. (Proc. of the Boston Soc. of Nat. Hist., vol. 23).

NEKRASSOFF (A.).

1903.—Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Eies von *Cymbulia Peronii*. (Anat. Anz., vol. 24).

NUSBAUM (J.).

1913.—Zur Kentniss des Verhaltens des Kernkörperchens und dessen Derivate bei der Ovogenese einiger Tiefseeknochenfische. (Anat. Anz., vol. 43).

PANTEL (J.).

1913.—Les enveloppes de l'œuf avec leurs dépendances, les dégâts indirects du parasitisme. (La Cellule, vol. 29).

SEDGWICH (A.).

1898.—Student's text-book of Zoology, vol. I. (Swan Sonnenschein and Co., London).

SILVESTRI (F.).

1915.—Struttura dell'ovo e prima fasi di sviluppo di alcuni Imenotteri parassiti. (Boll. del Lab. di Zool. gen. e agraria, Portici, vol. 10).

SNOOK (H. J.) y LONG (J. A.).

1914.—Parasynaptic stages in the testis of *Aneides lugubris.* (Hall.). (University of California Publ. in Zool.).

STEVENS (N. M.).

1903.—On the ovogenesis and the spermatogenesis of *Sagitta bipunctata* (Zool. Jahrb., vol. 18).

1904.—Further studies on the ovogenesis of *Sagitta* (Zool. Jahrb., vol. 21).

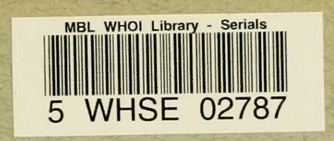
STRICHT (O. VAN DER).

1904.—Signification de la couche vitellogène dans l'oocyte de Tégénaire. (Comptes Rendus de l'Ass. des Anat., Session VI, Toulouse).

WINIVARTER (H. VON) y SAINMONT (G.).

1909.—Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mamifères. (Archiv. de Biol., vol. 24).

ERRATA.—*En la página 60, línea 7, donde dice* 16 μ, *debe decir* 160 μ.


MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02787